



Universidad
Norbert Wiener

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
PROGRAMA ACADÉMICO DE MEDICINA HUMANA

Tesis

Actividad antibacteriana in vitro del extracto etanólico de hojas de Brassica oleracea (col morada) sobre Escherichia coli y Salmonella enterica

Para optar el Título Profesional de
Médico Cirujano

Presentado por

Autora: Pacheco Huarhuachi, Dayan Isabel

Código ORCID: <https://orcid.org/0009-0004-3535-915X>

Autora: Rodríguez Palpan, Ruth Estrellita

Código ORCID: <https://orcid.org/0009-0009-3698-5511>

Asesor: Mg. Cerna Velazco, Nhell Heder

Código ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0414-0628>

Lima- Perú

2026

	DECLARACIÓN JURADA DE AUTORIA Y DE ORIGINALIDAD DEL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN		
	CÓDIGO: UPNW-GRA-FOR-033	VERSIÓN: 01 REVISIÓN: 01	FECHA: 30/06/2022

Yo, Rodriguez Palpan Ruth Estrellita egresado de la Facultad de **Ciencias de la Salud** y Programa Académico de **Medicina Humana** de la Universidad privada Norbert Wiener declaro que el trabajo de investigación **ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA IN VITRO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE HOJAS DE *Brassica oleracea* (COL MORADA) SOBRE *Escherichia coli* Y *Salmonella enterica*** Asesorado por el docente: Cerna Velazco Nhell Heder DNI 45349873 ORCID 0000-0003-0414-0628 tiene un índice de similitud de **10 (diez) %** con código OID: trn:oid::14912:606790047 verificable en el reporte de originalidad del software Turnitin.

Así mismo:

1. Se ha mencionado todas las fuentes utilizadas, identificando correctamente las citas textuales o paráfrasis provenientes de otras fuentes.
2. No he utilizado ninguna otra fuente distinta de aquella señalada en el trabajo.
3. Se autoriza que el trabajo puede ser revisado en búsqueda de plagios.
4. El porcentaje señalado es el mismo que arrojó al momento de indexar, grabar o hacer el depósito en el turnitin de la universidad y,
5. Asumimos la responsabilidad que corresponda ante cualquier falsedad, ocultamiento u omisión en la información aportada, por lo cual nos sometemos a lo dispuesto en las normas del reglamento vigente de la universidad.



.....
 Firma de autor 1
 Nombres y apellidos del Egresado
Rodriguez Palpan Ruth Estrellita
 DNI: 78106485



.....
 Firma
 Nombres y apellidos del Asesor
Nhell Cerna
 DNI: 45349873

	DECLARACIÓN JURADA DE AUTORIA Y DE ORIGINALIDAD DEL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN		
	CÓDIGO: UPNW-GRA-FOR-033	VERSIÓN: 01 REVISIÓN: 01	FECHA: 30/06/2022

Yo, Pacheco Huarhuachi Dayan Isabel egresado de la Facultad de **Ciencias de la Salud** y Programa Académico de **Medicina Humana** de la Universidad privada Norbert Wiener declaro que el trabajo de investigación **ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA IN VITRO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE HOJAS DE *Brassica oleracea* (COL MORADA) SOBRE *Escherichia coli* Y *Salmonella enterica*** Asesorado por el docente: Cerna Velazco Nhell Heder DNI 45349873 ORCID 0000-0003-0414-0628 tiene un índice de similitud de **10 (diez) %** con código OID: trn:oid:::14912:606790047 verificable en el reporte de originalidad del software Turnitin.

Así mismo:

1. Se ha mencionado todas las fuentes utilizadas, identificando correctamente las citas textuales o paráfrasis provenientes de otras fuentes.
2. No he utilizado ninguna otra fuente distinta de aquella señalada en el trabajo.
3. Se autoriza que el trabajo puede ser revisado en búsqueda de plagios.
4. El porcentaje señalado es el mismo que arrojó al momento de indexar, grabar o hacer el depósito en el turnitin de la universidad y,
5. Asumimos la responsabilidad que corresponda ante cualquier falsedad, ocultamiento u omisión en la información aportada, por lo cual nos sometemos a lo dispuesto en las normas del reglamento vigente de la universidad.



.....
 Firma de autor 1
 Nombres y apellidos del Egresado
Pacheco Huarhuachi Dayan Isabel
 DNI: 74468885



.....
 Firma
 Nombres y apellidos del Asesor
Nhell Cerna
 DNI: 45349873

Lima, 30 de Junio de 2026

Dedicatoria

A Dios, por concedernos la fuerza, la guía y la sabiduría necesarias durante cada etapa de este camino. A nuestros padres, por su amor constante, respaldo incondicional y sacrificios, que nos han motivado a continuar pese a las dificultades. A nuestros amigos, por acompañarnos y alentarnos en los momentos más complicados. La realización de esta tesis ha sido posible gracias al apoyo de todos ellos.

Pacheco Huarhuachi Dayan Isabel

Rodríguez Palpan Ruth Estrellita

Agradecimientos

A la Universidad Norbert Wiener, por brindarnos los recursos, conocimientos y espacios académicos que contribuyeron a nuestra formación profesional y desarrollo personal. Expresamos nuestro profundo agradecimiento a nuestro asesor, por su constante apoyo, paciencia, dedicación y valiosa orientación a lo largo de este proceso, cuyo compromiso fue esencial para lograr la culminación satisfactoria de este trabajo.

Pacheco Huarhuachi Dayan Isabel

Rodríguez Palpan Ruth Estrellita

Índice general

Dedicatoria	iii
Agradecimientos	iv
Índice general	v
Índice de tablas	vi
Índice de figuras	vii
Resumen	viii
Abstract	ix
I. INTRODUCCIÓN	1
II. METODOLOGÍA	12
III. RESULTADOS	19
IV. DISCUSIÓN	26
V. CONCLUSIONES	29
VI. RECOMENDACIONES	30
REFERENCIAS	31
VII. ANEXOS	39

Índice de tablas

Tabla 1. Características de Escherichia coli	9
Tabla 2. Características de Salmonella enterica	9
Tabla 3. Operacionalización de la variable independiente: tratamiento aplicado	14
Tabla 4. Operacionalización de la variable dependiente: actividad antibacteriana in vitro	14
Tabla 5. Síntesis descriptiva de la respuesta antibacteriana por tratamiento y cepa bacteriana	19
Tabla 6. Estadísticos descriptivos del diámetro de los halos de inhibición por cepa y tratamiento	19
Tabla 7. Solubilidad del extracto etanólico en diferentes solventes	20
Tabla 8. Perfil fitoquímico cualitativo del extracto etanólico	21
Tabla 9. Evaluación de la normalidad de los halos de inhibición mediante Shapiro-Wilk	22
Tabla 10. ANOVA de un factor para los halos de inhibición según tratamiento	23
Tabla 11. Prueba de Levene basada en la mediana para la homogeneidad de varianzas	23
Tabla 12. Comparaciones seleccionadas de los tratamientos frente a los controles mediante T3 de Dunnett	23
Tabla 13. Agrupación de tratamientos por cepa según comparaciones múltiples T3 de Dunnett	24
Tabla 14. Examen microbiológico	40
Tabla 15. Examen fitoquímico en extracto etanólico	40

Índice de figuras

Figura 1. Brassica oleracea	7
Figura 2. Flujograma del procedimiento metodológico del estudio	15
Figura 3. Medias e intervalos de confianza del 95 % de los halos de inhibición por tratamiento y cepa bacteriana	20
Figura 4. Perfil cualitativo de solubilidad del extracto etanólico	21
Figura 5. Perfil fitoquímico cualitativo del extracto etanólico	22
Figura 6. Agrupación estadística de los tratamientos según cepa bacteriana	25

Resumen

La resistencia antimicrobiana ha impulsado la búsqueda de sustancias de origen vegetal con posible actividad antibacteriana. El objetivo fue determinar la actividad antibacteriana in vitro del extracto etanólico de hojas de *Brassica oleracea* (col morada) frente a *Escherichia coli* y *Salmonella enterica*. Se realizó un estudio cuantitativo, aplicado y experimental. Se evaluaron concentraciones de 25 %, 50 % y 75 %, con dimetilsulfóxido como control negativo y ciprofloxacino de 5 µg como control positivo; cada condición se ensayó diez veces por cepa. Se efectuaron tamizaje fitoquímico y difusión en agar por pozos, y los halos se analizaron mediante ANOVA, prueba de Levene y T3 de Dunnett. El extracto presentó compuestos fenólicos, alcaloides, lactonas α,β -insaturadas, taninos, antocianinas, flavonoides y saponinas. Frente a *Escherichia coli*, las tres concentraciones registraron 6,00 mm, sin inhibición adicional respecto del control negativo. Frente a *Salmonella enterica*, el extracto al 25 % no difirió del control, mientras que las concentraciones de 50 % y 75 % alcanzaron 8,14 mm y 10,04 mm, respectivamente ($p < 0,001$). El ciprofloxacino produjo halos de 37,39 mm y 33,07 mm y fue superior a todos los tratamientos. Se concluyó que el extracto mostró actividad antibacteriana selectiva y de baja magnitud frente a *Salmonella enterica*, más evidente al 75 %, pero no frente a *Escherichia coli*. Su efecto fue muy inferior al ciprofloxacino, por lo que los hallazgos deben considerarse preliminares y requieren la estandarización química del extracto y la determinación de sus concentraciones mínima inhibitoria y mínima bactericida.

Palabras clave: Antibacterianos; Extractos vegetales; *Escherichia coli*; *Salmonella enterica*; Resistencia a los antimicrobianos.

Abstract

Antimicrobial resistance has increased interest in plant-derived substances with potential antibacterial activity. This study aimed to determine the in vitro antibacterial activity of the ethanolic extract of *Brassica oleracea* (red cabbage) leaves against *Escherichia coli* and *Salmonella enterica*. A quantitative, applied, experimental study was conducted. Extract concentrations of 25%, 50%, and 75% were tested, with dimethyl sulfoxide as the negative control and ciprofloxacin 5 µg as the positive control; each condition was assayed ten times per strain. Phytochemical screening and agar well diffusion were performed, and inhibition zones were analyzed using ANOVA, Levene's test, and Dunnett's T3. The extract contained phenolic compounds, alkaloids, α,β-unsaturated lactones, tannins, anthocyanins, flavonoids, and saponins. Against *Escherichia coli*, all three concentrations measured 6.00 mm, with no additional inhibition relative to the negative control. Against *Salmonella enterica*, the 25% extract did not differ from the control, whereas the 50% and 75% concentrations produced inhibition zones of 8.14 mm and 10.04 mm, respectively ($p < 0.001$). Ciprofloxacin produced zones of 37.39 mm and 33.07 mm and outperformed all extract treatments. The extract showed selective, low-magnitude antibacterial activity against *Salmonella enterica*, most evident at 75%, but no activity against *Escherichia coli*. Its effect was substantially lower than that of ciprofloxacin; therefore, these findings should be considered preliminary and warrant chemical standardization of the extract and determination of its minimum inhibitory and minimum bactericidal concentrations.

Keywords: Anti-Bacterial Agents; Plant Extracts; *Escherichia coli*; *Salmonella enterica*; Antimicrobial Resistance.

I. INTRODUCCIÓN

1.1. Planteamiento del problema

Las infecciones causadas por *Escherichia coli* y *Salmonella enterica* constituyen un problema de salud pública, debido a que ambas bacterias se encuentran entre los agentes responsables de enfermedades gastrointestinales frecuentes (1). Tras ingresar al sistema digestivo humano, pueden ocasionar diversos signos y síntomas (2), desde cuadros diarreicos hasta complicaciones graves, como el síndrome urémico hemolítico o la septicemia (3).

A escala mundial, la Organización Mundial de la Salud (OMS) informa que los alimentos contaminados ocasionan aproximadamente 420 000 muertes (4). La detección de *Escherichia coli* y *Salmonella enterica* en alimentos de consumo habitual representa un desafío para países como China, Japón e India (5), donde algunos reportes señalan porcentajes de hasta 60 % (6). En Europa, la contaminación por estas bacterias continúa siendo relevante y comprende cerca del 25 % de los casos reportados (7). Estados Unidos y México también registran numerosos brotes alimentarios asociados con ambos patógenos (8). En México, el Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica (SINAVE) notificó 92 013 casos vinculados con *Salmonella enterica* entre 2000 y 2017, principalmente en zonas de bajos recursos; además, se identificó la carne fresca como una fuente frecuente y se documentó resistencia a antibióticos en diversos aislamientos (9). En Argentina y Brasil también se ha informado la presencia de *Escherichia coli* (10), con una frecuencia de 11,5 % según los reportes citados (11).

En el Perú, aproximadamente uno de cada cien habitantes presenta trastornos relacionados con el consumo de alimentos contaminados. Factores como la rápida urbanización, el estilo de vida sedentario y el incremento del consumo de alimentos fuera del hogar aumentan el riesgo de exposición (12). Esta situación se agrava por las deficiencias en educación sobre inocuidad alimentaria y por una regulación insuficiente de la calidad de los alimentos. Según el Instituto Nacional de Salud, el 72,3 % de las bacterias identificadas presentó resistencia a antibióticos (13), mientras que otro informe señaló resistencia a fármacos en el 46,5 % de los aislamientos de *Escherichia coli* (12,14). Asimismo, los grupos más vulnerables a la salmonelosis invasiva fueron los menores de edad, con una incidencia de 14,3 %, y los adultos mayores de 65 años, con 24,3 % (15). En este contexto, estudiar la actividad antibacteriana de extractos vegetales puede aportar

evidencia experimental sobre alternativas naturales, accesibles y potencialmente sostenibles; no obstante, cualquier aplicación terapéutica requerirá evaluaciones posteriores.

1.2. Formulación del problema

1.2.1. Problema general

¿Cuál es la actividad antibacteriana del extracto etanólico de hojas de *Brassica oleracea* (col morada) sobre *Escherichia coli* y *Salmonella enterica*?

1.2.2. Problemas específicos

- ¿Qué metabolitos secundarios están presentes en el extracto etanólico de hojas de *Brassica oleracea* (col morada), según el análisis fitoquímico?
- ¿Cuál es la actividad antibacteriana del extracto etanólico de hojas de *Brassica oleracea* (col morada) sobre *Escherichia coli* a concentraciones de 25 %, 50 % y 75 %?
- ¿Cuál es la actividad antibacteriana del extracto etanólico de hojas de *Brassica oleracea* (col morada) sobre *Salmonella enterica* a concentraciones de 25 %, 50 % y 75 %?
- ¿Cuál es la actividad antibacteriana del extracto etanólico de hojas de *Brassica oleracea* (col morada), en comparación con el ciprofloxacino de 5 µg, sobre *Escherichia coli* y *Salmonella enterica*?

1.3. Justificación de la investigación

1.3.1. Justificación teórica

La justificación teórica del estudio radicó en ampliar el conocimiento sobre las características fitoquímicas y la posible actividad antibacteriana del extracto etanólico de hojas de *Brassica oleracea* (col morada) frente a *Escherichia coli* y *Salmonella enterica*. Asimismo, se buscó aportar información que pueda sustentar futuras investigaciones sobre alternativas accesibles en contextos con recursos limitados.

1.3.2. Justificación metodológica

Desde el punto de vista metodológico, se emplearon pruebas in vitro con un enfoque cuantitativo para medir los halos de inhibición producidos por el extracto etanólico de hojas de col morada. Este procedimiento permitió obtener datos objetivos y comparar la respuesta antibacteriana observada entre las concentraciones evaluadas.

1.3.3. Justificación práctica

En el ámbito práctico, los resultados aportan información preliminar que puede orientar futuras investigaciones sobre el uso responsable de extractos naturales frente a bacterias de interés sanitario, especialmente en contextos con acceso limitado a medicamentos. Sin embargo, su eventual aplicación terapéutica requiere estudios adicionales de eficacia, seguridad y dosificación.

1.4. Objetivos de la investigación

1.4.1. Objetivo general

Determinar la actividad antibacteriana del extracto etanólico de hojas de *Brassica oleracea* (col morada) sobre *Escherichia coli* y *Salmonella enterica*.

1.4.2. Objetivos específicos

- Identificar los metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de hojas de *Brassica oleracea* (col morada), según el análisis fitoquímico.
- Determinar la actividad antibacteriana del extracto etanólico de hojas de *Brassica oleracea* (col morada) sobre *Escherichia coli* a concentraciones de 25 %, 50 % y 75 %.
- Determinar la actividad antibacteriana del extracto etanólico de hojas de *Brassica oleracea* (col morada) sobre *Salmonella enterica* a concentraciones de 25 %, 50 % y 75 %.
- Comparar la actividad antibacteriana del extracto etanólico de hojas de *Brassica oleracea* (col morada) con la del ciprofloxacino de 5 µg sobre *Escherichia coli* y *Salmonella enterica*.

1.5. Hipótesis de la investigación

1.5.1. Hipótesis general

H1: El extracto etanólico de hojas de *Brassica oleracea* (col morada) presenta actividad antibacteriana sobre *Escherichia coli* y *Salmonella enterica*.

H0: El extracto etanólico de hojas de *Brassica oleracea* (col morada) no presenta actividad antibacteriana sobre *Escherichia coli* ni *Salmonella enterica*.

1.5.2. Hipótesis específicas

H2: El extracto etanólico de hojas de *Brassica oleracea* (col morada) contiene metabolitos secundarios con potencial actividad antibacteriana.

H3: El extracto etanólico de hojas de *Brassica oleracea* (col morada) presenta actividad antibacteriana, a concentraciones de 25 %, 50 % y 75 %, sobre *Escherichia coli*.

H4: El extracto etanólico de hojas de *Brassica oleracea* (col morada) presenta actividad antibacteriana, a concentraciones de 25 %, 50 % y 75 %, sobre *Salmonella enterica*.

H5: La actividad antibacteriana del extracto etanólico de hojas de *Brassica oleracea* (col morada) es mayor que la del ciprofloxacino de 5 µg sobre *Escherichia coli* y *Salmonella enterica*.

1.6. Antecedentes

1.6.1. Antecedentes internacionales

Zaineb A. y Rasha M. (16) evaluaron, en Irak, la actividad antibacteriana de extractos de *Brassica oleracea* var. frente a *Staphylococcus epidermidis* y *Acinetobacter baumannii*. El estudio tuvo un enfoque cuantitativo y utilizó extractos de repollo rojo preparados con etanol al 80 % y 95 %, cepas bacterianas y una guía de observación para registrar el análisis antimicrobiano. El extracto obtenido con etanol al 95 % mostró la mayor actividad frente a *Staphylococcus epidermidis*. La concentración mínima inhibitoria fue de 5 mg/mL y el halo de inhibición alcanzó 27 mm. Los autores concluyeron que el extracto presentó potencial como agente antibacteriano natural.

Alani H. et al. (17) investigaron, en Turquía, la actividad antibacteriana de extractos de *Brassica oleracea* L. var. *capitata* f. *rubra* en diversos microorganismos y líneas celulares. Mediante un diseño experimental, evaluaron tanto la actividad antimicrobiana como la protección del ADN, utilizando el plásmido pBR322 expuesto a radiación ultravioleta y peróxido de hidrógeno. La población estuvo constituida por *Brassica oleracea* y cepas microbianas, y el registro se realizó mediante una guía de observación. Los extractos no mostraron actividad antibacteriana ni antifúngica frente a los microorganismos estudiados; sin embargo, presentaron actividad protectora del ADN a 50 mg/mL. Se concluyó que el extracto no evidenció actividad antibacteriana frente a las bacterias examinadas.

Protska V. et al. (18) estudiaron, en Ucrania, la composición de compuestos volátiles y la actividad antimicrobiana de extractos de hojas de *Brassica oleracea* L. El estudio tuvo un enfoque cuantitativo y empleó cromatografía de gases para analizar los compuestos volátiles, además de pruebas de actividad antibacteriana. La población estuvo constituida por hojas de col y se utilizó una guía de observación para el registro. Entre los compuestos identificados destacaron el isotiocianato de alilo, la dihidropseudoionona, la ar-turmerona, el nerolidol y el 3,5-di-terc-butil-4-hidroxibenzaldehído. Los autores concluyeron que las hojas de *Brassica oleracea* L. presentaron potencial para inhibir patógenos como *Escherichia coli* y *Salmonella enterica*.

Kavishri S. et al. (19) estudiaron extractos de *Brassica oleracea* en Chennai. Mediante un diseño experimental, evaluaron la actividad antimicrobiana y citotóxica de los extractos en cepas bacterianas, utilizando una guía de observación. Los resultados mostraron un halo de inhibición de 9 mm frente a *Streptococcus mutans*. La citotoxicidad aumentó con la concentración y alcanzó su mayor nivel con 20 µL del extracto. Los autores concluyeron que el extracto de *Brassica oleracea* presentó propiedades antibacterianas.

Rahmani M. et al. (20) estudiaron, en Irán, extractos de *Brassica oleracea* obtenidos de repollo blanco y brócoli frente a cepas Gram positivas y Gram negativas. El estudio tuvo un enfoque cuantitativo; los extractos se prepararon mediante el método de inmersión y los resultados se registraron con una guía de observación. El extracto inhibió el crecimiento de *Escherichia coli* con un halo de 15,67 mm y el de *Staphylococcus aureus* con 14,67 mm. Además, su efecto sobre las cepas fue comparable al de la doxiciclina. Los autores concluyeron que los extractos presentaron potencial antimicrobiano frente a las bacterias evaluadas.

1.6.2. Antecedentes nacionales

Castro A. (21) evaluó, en Lima, la actividad antimicrobiana de extractos etanólicos y acuosos de *Psidium guajava* frente a *Escherichia coli*. El estudio fue experimental y prospectivo; la población estuvo constituida por hojas de *Psidium guajava* y el registro se realizó mediante una guía de observación. Los extractos evaluados a 100 mg/mL no produjeron actividad frente a *Escherichia coli*. El autor concluyó que los extractos etanólicos y acuosos de *Psidium guajava* no mostraron actividad antimicrobiana frente a esta bacteria.

Murillo A. (22) evaluó, en Lima, el efecto antibacteriano del extracto de *Psidium guajava* frente a *Salmonella typhimurium*, *Salmonella infantis* y *Escherichia coli*. El estudio tuvo un enfoque cuantitativo y un diseño experimental; incluyó material vegetal y cinco cepas bacterianas, y utilizó una guía de observación para registrar los resultados del antibiograma. Se observó halo de inhibición en el 66,6 % de los ensayos con extracto etanólico. El autor concluyó que el extracto mostró actividad antibacteriana frente a *Salmonella* y *Escherichia coli*, aunque inferior a la producida por ciprofloxacino y sulfametoxazol.

Marquina B. y Vilcamango A. (23) evaluaron, en Jaén, el efecto antibacteriano del extracto de *Moringa oleifera* frente a *Escherichia coli* y *Salmonella Typhi*. El estudio fue cuantitativo y experimental; la población estuvo constituida por *Moringa oleifera* y se empleó una guía de observación para registrar las pruebas de antibiograma. La actividad antibacteriana aumentó con la concentración del extracto y alcanzó halos de hasta 17,5 mm frente a *Escherichia coli* y 15,6 mm frente a *Salmonella*. Los autores concluyeron que el extracto presentó actividad antibacteriana contra ambas cepas.

Narváez K. y Quiroz M. (24) estudiaron, en Lima, el extracto de *Rosmarinus officinalis* frente a *Salmonella enterica* y *Escherichia coli*. El estudio tuvo un enfoque cuantitativo y un diseño experimental; la población estuvo constituida por hojas de *Rosmarinus officinalis* y cepas bacterianas, y se utilizó una guía de observación. El extracto al 80 % produjo halos de 10,50 mm frente a *Salmonella enterica* y 11,26 mm frente a *Escherichia coli*. Además, se identificaron compuestos fenólicos, taninos y flavonoides. Los autores concluyeron que el extracto redujo el crecimiento de ambas bacterias.

Paima W. y Ríos A. (25) examinaron, en Iquitos, extractos etanólicos de hojas y rizomas de *Dryopteris filix-mas* frente a diversas cepas bacterianas. El estudio tuvo un enfoque cuantitativo y un diseño experimental; la población estuvo constituida por *Dryopteris filix-mas* y el registro se realizó mediante una guía de observación. El extracto del rizoma mostró actividad moderada frente a *Salmonella typhimurium*, con un halo de 15 mm, y frente a *Escherichia coli*, con 12,8 mm. También se identificaron compuestos bioactivos como fenoles, saponinas y catequinas. Los autores concluyeron que el extracto presentó actividad antibacteriana frente a ambas bacterias.

1.7. Bases teóricas

Generalidades de *Brassica oleracea*: La col morada pertenece a la familia Brassicaceae y se cultiva ampliamente por sus hojas comestibles, caracterizadas por una coloración morada o rojo oscuro. Esta variedad contiene nutrientes esenciales y es apreciada tanto en la alimentación como en prácticas tradicionales. Su cultivo se distribuye en diversas regiones del mundo, principalmente en climas templados (26).



Figura 1. *Brassica oleracea*

Nota. Fotografía del material vegetal utilizado en el estudio. Elaboración propia.

Características botánicas: *Brassica oleracea* es una planta herbácea bienal de la familia Brassicaceae. Presenta una amplia variabilidad morfológica, de la que derivan formas cultivadas como el repollo, la col rizada, el brócoli, la coliflor y las coles de Bruselas (27). En estado silvestre, posee hojas grandes y carnosas, de color verde y con bordes lisos o ligeramente ondulados. Su sistema radicular es pivotante y presenta una raíz principal cuyo grosor varía según el cultivo (28).

Composición nutricional y química: La col morada constituye una fuente de vitaminas y minerales, entre los que destaca la vitamina C por su participación en el funcionamiento del sistema inmunológico (29). También contiene potasio, calcio y magnesio. Su color característico se relaciona con la presencia de antocianinas, compuestos flavonoides con actividad antioxidante (30).

Propiedades medicinales: Los glucosinolatos y sus productos de degradación, como los isotiocianatos, han sido estudiados por sus posibles efectos antioxidantes, antiinflamatorios y protectores frente al daño celular (31). Asimismo, el contenido de fibra, potasio y compuestos antioxidantes de *Brassica oleracea* se ha relacionado con beneficios potenciales para la salud cardiovascular y digestiva (32).

Propiedades antibacterianas: La col morada contiene compuestos bioactivos, como antocianinas y glucosinolatos, que han sido investigados por su posible capacidad para inhibir el crecimiento de microorganismos. Algunos estudios han evaluado extractos de *Brassica oleracea* frente a bacterias patógenas, entre ellas *Escherichia coli* y *Salmonella enterica*, lo que ha incrementado el interés por su potencial como fuente de agentes antimicrobianos naturales (33).

Métodos de extracción de compuestos de *Brassica oleracea*: Los compuestos bioactivos pueden obtenerse mediante procedimientos como la maceración, la destilación y la extracción con solventes. En la maceración, las hojas frescas o secas se mantienen en contacto con solventes como etanol o metanol. La destilación se utiliza principalmente para recuperar componentes volátiles, aunque su aplicación es menos frecuente en *Brassica oleracea* debido a su bajo contenido de aceites esenciales. La extracción con etanol, metanol o cloroformo permite recuperar distintos compuestos según su polaridad. La selección del método depende de la naturaleza de los componentes de interés y del propósito del análisis (34).

Cultivo e impacto ambiental: *Brassica oleracea* puede cultivarse en diversos tipos de suelo, aunque se desarrolla mejor en suelos fértiles y bien drenados, con un pH entre 6,0 y 7,5. Para un crecimiento adecuado requiere, por lo general, un clima templado, con temperaturas entre 15 °C y 20 °C. Se ha descrito que su cultivo puede integrarse en sistemas agrícolas rotativos y contribuir al manejo sostenible del suelo, siempre que se apliquen prácticas agronómicas apropiadas (35,36).

Aplicaciones de *Brassica oleracea* en la prevención de enfermedades crónicas: Debido a su contenido de antioxidantes, fibra y glucosinolatos, el consumo de *Brassica oleracea* ha sido estudiado en relación con la salud cardiovascular, el metabolismo de la glucosa y la prevención del daño celular. Los isotiocianatos derivados de los glucosinolatos han mostrado propiedades de interés en investigaciones sobre procesos carcinogénicos (37). Asimismo, la fibra dietética contribuye a la función digestiva y al control metabólico, por lo que su consumo puede formar parte de una alimentación saludable (38).

***Escherichia coli*:** Es una bacteria que forma parte de la microbiota intestinal; sin embargo, determinadas cepas patógenas pueden ocasionar diarrea, infecciones urinarias y otras enfermedades. Algunas cepas productoras de toxina Shiga pueden causar

síndrome urémico hemolítico, una complicación grave que afecta principalmente a los riñones (39).

Tabla 1. Características de *Escherichia coli*

Categoría	Descripción
Clasificación	Gram negativa, perteneciente a la familia Enterobacteriaceae.
Morfología	Bacilo de aproximadamente 2 µm de longitud. Muchas cepas poseen flagelos peritricos que les confieren movilidad.
Cepas patógenas	Las cepas patógenas pueden causar diarrea, infecciones del tracto urinario y otras infecciones extraintestinales; algunas cepas productoras de toxina Shiga pueden ocasionar síndrome urémico hemolítico.
Patogenia	Depende de factores de virulencia como adhesinas, toxinas, sistemas de secreción y capacidad de invasión, según el patotipo.
Enfermedades asociadas	Diarrea, colitis hemorrágica, infecciones del tracto urinario, bacteriemia y síndrome urémico hemolítico, entre otras.
Tratamiento	Depende del tipo de infección y del perfil de susceptibilidad. En cuadros diarreicos, el manejo puede incluir hidratación y tratamiento de soporte; el uso de antibióticos se valora según el patotipo y la gravedad.
Resistencia a antibióticos	Algunas cepas presentan resistencia a múltiples antibióticos; por ello, la selección del tratamiento debe considerar las pruebas de susceptibilidad antimicrobiana.
Diagnóstico	Se realiza mediante cultivo, pruebas de susceptibilidad antimicrobiana y, cuando corresponde, técnicas moleculares como la reacción en cadena de la polimerasa.
Prevención	Incluye higiene de manos, manipulación y cocción segura de alimentos, consumo de agua segura y medidas adecuadas de saneamiento.

***Salmonella enterica*:** Es una bacteria Gram negativa del género *Salmonella* y constituye uno de los principales agentes de salmonelosis. Su capacidad para sobrevivir en diferentes ambientes favorece la transmisión a través de la cadena alimentaria. La infección afecta principalmente el sistema gastrointestinal y puede causar diarrea, fiebre, dolor abdominal, calambres y vómitos. En casos graves, la bacteria puede diseminarse al torrente sanguíneo y producir bacteriemia, septicemia u otras infecciones sistémicas. Por ello, *Salmonella enterica* representa un patógeno de importancia para la salud pública, especialmente ante el incremento de la resistencia a los antibióticos (40).

Tabla 2. Características de *Salmonella enterica*

Categoría	Descripción
Clasificación	Gram negativa, perteneciente a la familia Enterobacteriaceae.
Morfología	Bacilo de 2 a 5 µm de longitud. La mayoría de los serovares posee flagelos y presenta movilidad.
Cepas patógenas	<i>Salmonella enterica</i> comprende diversos serovares patógenos, entre ellos Typhimurium, Enteritidis y Typhi, responsables de enfermedades en seres humanos y animales.
Patogenia	Su patogenidad se relaciona con la invasión del epitelio intestinal, la inducción de una respuesta inflamatoria y, en determinados serovares, la capacidad de diseminación sistémica.
Enfermedades asociadas	Salmonelosis no tifoidea, fiebre entérica y bacteriemia, entre otras manifestaciones.

Categoría	Descripción
Tratamiento	La mayoría de los cuadros gastrointestinales no complicados recibe tratamiento de soporte. Los antibióticos pueden indicarse en casos graves, sistémicos o en grupos de riesgo, de acuerdo con el perfil de susceptibilidad.
Resistencia a antibióticos	Se han identificado cepas resistentes a múltiples antibióticos mediante la adquisición y transmisión de genes de resistencia.
Diagnóstico	Se realiza mediante el cultivo de muestras clínicas y pruebas de susceptibilidad antimicrobiana; pueden emplearse métodos moleculares según la disponibilidad.
Prevención	Incluye cocción y almacenamiento adecuados de los alimentos, higiene de manos, prevención de la contaminación cruzada y consumo de agua segura.

Sensibilidad bacteriana: Se refiere a la respuesta de una bacteria frente a un agente antimicrobiano y permite determinar si su crecimiento es inhibido en condiciones estandarizadas. Puede evaluarse mediante métodos como la difusión en agar o la microdilución. En estas pruebas se observan zonas de inhibición o cambios en la viabilidad bacteriana, lo que contribuye a comparar la actividad de las sustancias evaluadas y, en el contexto clínico, a orientar la selección del tratamiento (41).

Solvente: Es una sustancia, generalmente líquida, capaz de disolver otros componentes y formar una mezcla homogénea. En la extracción de productos naturales, la elección del solvente depende de la polaridad de los compuestos que se desean recuperar. El etanol, por ejemplo, se utiliza para extraer flavonoides, alcaloides y otros metabolitos secundarios. Una selección adecuada favorece el rendimiento de la extracción y la obtención de concentraciones suficientes para evaluar la actividad biológica (42).

Halos de inhibición: Son zonas circulares sin crecimiento microbiano que se forman alrededor de discos o pozos que contienen una sustancia antimicrobiana. Se observan en ensayos de difusión en agar y su diámetro, expresado en milímetros, se utiliza como indicador de la actividad inhibitoria. Un halo mayor refleja una mayor inhibición bajo las condiciones del ensayo, mientras que la ausencia de un halo adicional puede indicar falta de actividad o una difusión limitada del compuesto en el medio (43).

Escala de McFarland: Es un sistema de referencia utilizado para estandarizar la turbidez del inóculo bacteriano en pruebas microbiológicas. El estándar 0,5 de McFarland corresponde aproximadamente a $1,5 \times 10^8$ unidades formadoras de colonias por mililitro. Su empleo permite preparar suspensiones bacterianas comparables y reducir la variabilidad asociada con la cantidad de microorganismos inoculados en pruebas de difusión o microdilución (44).

Extracto vegetal: Es una preparación obtenida a partir de material vegetal mediante procedimientos como la maceración, la destilación o la extracción con solventes. Puede

contener flavonoides, alcaloides, terpenos, compuestos fenólicos y otros metabolitos. Su composición y concentración dependen de la especie vegetal, la parte utilizada y las condiciones del proceso de extracción (45).

Agar: Es un polisacárido obtenido de determinadas algas rojas y utilizado en microbiología para preparar medios de cultivo sólidos. Al formar una matriz estable, proporciona una superficie sobre la cual pueden crecer y aislarse microorganismos. Esta propiedad lo convierte en un componente fundamental de los ensayos de sensibilidad antimicrobiana y de otras pruebas microbiológicas realizadas en condiciones controladas (46).

In vitro: Se refiere a los experimentos realizados fuera de un organismo vivo, en condiciones controladas de laboratorio. Este tipo de ensayo permite evaluar de manera directa la respuesta de células, tejidos o microorganismos frente a una sustancia y facilita la estandarización de las condiciones experimentales. No obstante, sus resultados representan evidencia preliminar y no equivalen, por sí solos, a eficacia terapéutica en seres humanos (47).

II. METODOLOGÍA

2.1. Enfoque investigativo

El estudio tuvo un enfoque cuantitativo, debido a que la actividad antibacteriana se evaluó mediante mediciones numéricas del diámetro de los halos de inhibición, expresadas en milímetros. Los datos obtenidos en los ensayos experimentales se organizaron y analizaron con procedimientos estadísticos descriptivos e inferenciales, de acuerdo con los grupos de tratamiento comparados (50).

2.2. Tipo de investigación

La investigación fue de tipo aplicada, porque generó evidencia experimental sobre la actividad antibacteriana del extracto etanólico de hojas de *Brassica oleracea* frente a bacterias de interés sanitario. Los hallazgos se plantearon como información preliminar para investigaciones posteriores y no como demostración de eficacia terapéutica en seres humanos (48).

2.3. Diseño de investigación

El diseño fue experimental *in vitro* y comparativo. Se manipuló la variable independiente mediante cinco condiciones: extracto etanólico al 25 %, 50 % y 75 %, ciprofloxacino de 5 µg como control positivo y dimetilsulfóxido como control negativo. La variable dependiente fue el diámetro del halo de inhibición producido frente a *Escherichia coli* y *Salmonella enterica*. Cada cepa se analizó de manera independiente para comparar la respuesta entre los tratamientos (49).

2.4. Población y criterios de selección

Población

Material vegetal: La población estuvo constituida por 5 kg de *Brassica oleracea* (col morada) procedentes del departamento de Junín.

Material biológico: La población biológica estuvo constituida por las cepas de referencia *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Salmonella enterica* ATCC 51741.

Criterios de inclusión

Material vegetal:

- Hojas reconocidas taxonómicamente como *Brassica oleracea* (col morada).
- Hojas sin impurezas perceptibles, deterioro evidente ni signos de contaminación biológica.

- Material vegetal procedente del departamento de Junín.

Material biológico:

- Cepas bacterianas de referencia, identificadas y estandarizadas por la American Type Culture Collection (ATCC).
- Cepas viables, conservadas de acuerdo con las indicaciones del proveedor y dentro de su periodo de uso.

Criterios de exclusión

Material vegetal:

- Tallos, raíces u otras partes de *Brassica oleracea* distintas de las hojas.
- Muestras de procedencia distinta del departamento de Junín o con deterioro visible.

Material biológico:

- Aislamientos bacterianos de origen clínico no estandarizados para el estudio.
- Otras especies bacterianas, cepas fúngicas o cultivos con evidencia de contaminación.

2.5. Muestra, muestreo y unidad de análisis

Se empleó un muestreo no probabilístico e intencional, basado en la disponibilidad del material vegetal y en el cumplimiento de los criterios de selección establecidos (51).

Muestra vegetal: Se seleccionó 1 kg de hojas de *Brassica oleracea* (col morada) para la preparación del extracto etanólico.

Muestra microbiológica: Se utilizaron 20 placas Petri, distribuidas en 10 placas para *Escherichia coli* y 10 para *Salmonella enterica*.

Repeticiones experimentales: Para cada cepa se registraron 10 mediciones en cada una de las cinco condiciones de tratamiento. Por tanto, la base de datos quedó constituida por 50 observaciones para *Escherichia coli* y 50 para *Salmonella enterica*, con un total de 100 mediciones de halos de inhibición.

Unidad de análisis: Cada medición del diámetro del halo de inhibición, expresada en milímetros, obtenida para una cepa y una condición experimental.

2.6. Variables y operacionalización

a) Variable independiente: tratamiento aplicado

Definición conceptual: Condición experimental aplicada para evaluar la actividad antibacteriana, constituida por el extracto etanólico de hojas de *Brassica oleracea* en diferentes concentraciones y por los controles positivo y negativo.

Definición operacional: La variable se organizó en cinco categorías: extracto etanólico al 25 %, 50 % y 75 %, ciprofloxacino de 5 µg como control positivo y dimetilsulfóxido como control negativo. Las pruebas de solubilidad y la marcha fitoquímica se consideraron procedimientos de caracterización del extracto.

Tabla 3. Operacionalización de la variable independiente: tratamiento aplicado

Variable independiente	Componentes	Indicadores	Escala de medición	Categorías o valores
Tratamiento aplicado	Extracto etanólico de hojas de <i>Brassica oleracea</i>	Concentración del extracto	Nominal politómica	25 %, 50 % y 75 %
Tratamiento aplicado	Control positivo	Ciprofloxacino	Nominal	5 µg
Tratamiento aplicado	Control negativo	Dimetilsulfóxido (DMSO)	Nominal	50 µL

Nota. Elaboración propia.

b) Variable dependiente: actividad antibacteriana *in vitro*

Definición conceptual: Capacidad de una sustancia para inhibir el crecimiento bacteriano en condiciones controladas de laboratorio, evaluada mediante un ensayo de difusión en agar frente a *Escherichia coli* y *Salmonella enterica* (33).

Definición operacional: La actividad antibacteriana se determinó mediante el diámetro total de la zona de inhibición alrededor de cada pozo, medido en milímetros. La medición se realizó por separado para *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Salmonella enterica* ATCC 51741.

Tabla 4. Operacionalización de la variable dependiente: actividad antibacteriana *in vitro*

Variable dependiente	Dimensiones	Indicador	Escala de medición	Interpretación del halo
Actividad antibacteriana <i>in vitro</i>	Frente a <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Diámetro del halo de inhibición (mm)	Razón	< 8,00 mm: nula (-); 8,00-13,99 mm: sensibilidad límite (+); 14,00-20,00 mm: sensibilidad media (++); > 20,00 mm: sumamente sensible (+++)
Actividad antibacteriana <i>in vitro</i>	Frente a <i>Salmonella enterica</i> ATCC 51741	Diámetro del halo de inhibición (mm)	Razón	< 8,00 mm: nula (-); 8,00-13,99 mm: sensibilidad límite (+); 14,00-20,00 mm: sensibilidad media (++); > 20,00 mm: sumamente sensible (+++)

Nota. Elaboración propia.

2.7. Procedimientos y técnicas

Con la finalidad de presentar de manera ordenada la secuencia metodológica ejecutada, en la Figura 2 se resume el procedimiento general del estudio, desde la recolección del material vegetal hasta el registro y análisis de los datos microbiológicos.

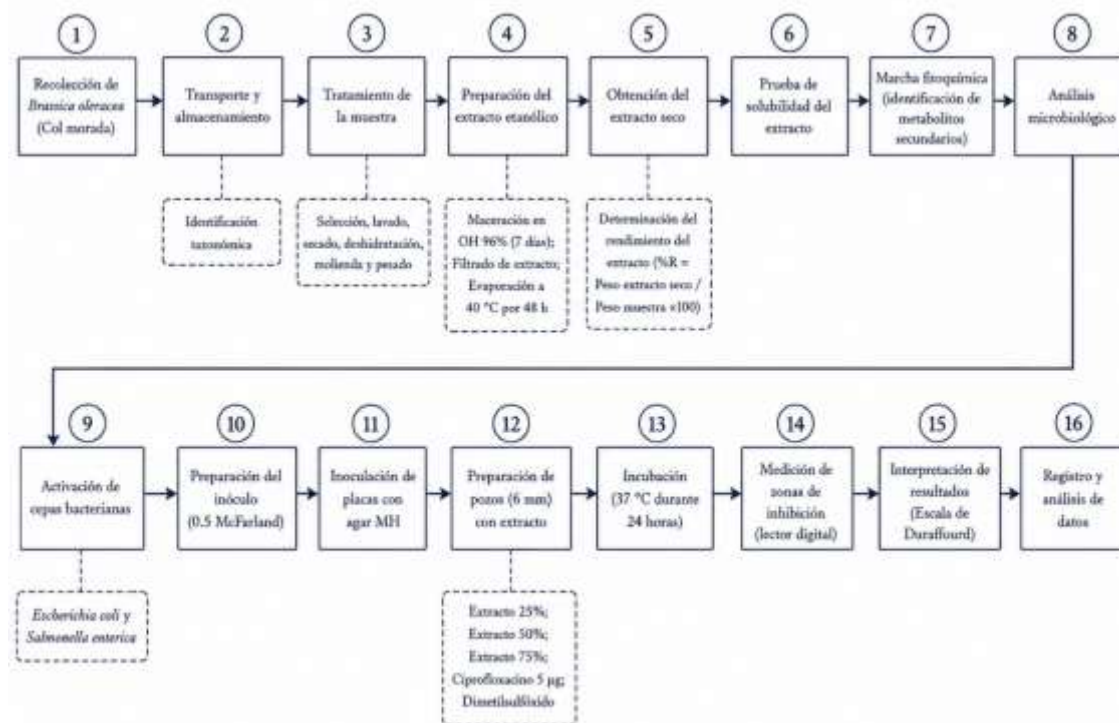


Figura 2. Flujograma del procedimiento metodológico del estudio

Nota. Elaboración propia.

Como se observa en la Figura 2, el procedimiento comprendió la recolección, el transporte y el tratamiento de la muestra vegetal, la preparación del extracto etanólico y la obtención del extracto seco, seguidos de la prueba de solubilidad, la marcha fitoquímica y el análisis microbiológico. Esta última fase incluyó la activación de las cepas bacterianas, la preparación del inóculo a 0,5 de McFarland, la inoculación en agar Mueller-Hinton, la preparación de pozos de 6 mm y la aplicación de los tratamientos correspondientes, la incubación, la medición del diámetro de los halos de inhibición y el registro de los datos para su posterior análisis.

2.7.1. Técnica

La técnica de recolección de datos fue la observación directa. Para la evaluación microbiológica se aplicó el método de difusión en agar por pozos, utilizando cavidades circulares de 6 mm de diámetro en agar Mueller-Hinton. Este procedimiento permitió comparar la inhibición producida por las tres concentraciones del extracto y por los controles.

2.7.2. Instrumento y control del procedimiento

El instrumento fue una guía de observación en la que se registraron la cepa bacteriana, la condición experimental, el número de repetición y el diámetro del halo de inhibición en milímetros. La medición se efectuó con un dispositivo digital. La calidad del procedimiento se aseguró mediante el uso de cepas ATCC, la estandarización del inóculo a 0,5 de McFarland, el empleo de agar Mueller-Hinton, pozos de 6 mm, condiciones controladas de incubación y 10 repeticiones por tratamiento. En consecuencia, no se aplicaron pruebas psicométricas de validez o confiabilidad; se priorizaron la estandarización, la reproducibilidad y el control de las condiciones experimentales (52).

2.7.3. Procedimiento experimental

Recolección y transporte del material vegetal: Las hojas de *Brassica oleracea* (col morada) se recolectaron en el departamento de Junín. Se seleccionaron muestras en condiciones adecuadas, que fueron protegidas en un recipiente de polietileno y con papel Kraft durante el transporte, con la finalidad de reducir la exposición a humedad, contaminación y deterioro.

Identificación taxonómica: La identificación del material vegetal fue realizada por un especialista en botánica mediante la evaluación de sus características morfológicas. La correspondencia de la muestra con *Brassica oleracea* quedó respaldada mediante el certificado correspondiente.

Preparación del extracto etanólico: Las hojas fueron seleccionadas, lavadas, deshidratadas, molidas y pesadas. El material se colocó en un frasco ámbar con etanol al 96 % y se mantuvo en maceración durante 7 días, con agitación dos veces al día. Posteriormente, el preparado se filtró y se mantuvo a 40 °C durante 48 horas para favorecer la evaporación del solvente y obtener el extracto seco utilizado en los ensayos (53).

Rendimiento del extracto: Se calculó mediante la relación entre la masa del extracto seco obtenido y la masa inicial de la muestra vegetal, expresada como porcentaje, de acuerdo con la fórmula gravimétrica descrita por Okoduwa et al. (57).

$$\%R = \frac{P_f}{P_i} \times 100$$

Donde:

- P_i = peso inicial de la muestra molida.
- P_f = peso final del extracto seco obtenido.
- %R = porcentaje de rendimiento del extracto.

Prueba de solubilidad: Se utilizaron 0,5 g del extracto seco. La solubilidad se evaluó cualitativamente en solventes de diferente polaridad: cloroformo, etanol al 96 %, etanol al 70 %, metanol, dimetilsulfóxido y agua destilada. La respuesta se registró mediante las categorías insoluble, baja, moderada o alta solubilidad, según la intensidad observada (53).

Marcha fitoquímica: Se empleó 1 mL del extracto para realizar reacciones cualitativas destinadas a identificar antraquinonas, compuestos fenólicos, terpenos y esteroides, alcaloides, lactonas α,β -insaturadas, taninos, antocianinas, saponinas y flavonoides. Para los alcaloides se incluyeron las reacciones de Dragendorff, Mayer y Wagner. Los cambios de color, la formación de precipitados o la turbidez se registraron como ausencia, presencia leve, moderada o abundante (54).

Preparación de las condiciones experimentales: El extracto etanólico se preparó a concentraciones de 25 %, 50 % y 75 %. Se incluyeron ciprofloxacino de 5 μg como control positivo y dimetilsulfóxido como control negativo.

Activación de las cepas: Las cepas liofilizadas de *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Salmonella enterica* ATCC 51741 se activaron mediante el sistema Kwik-Stik y se transfirieron a un medio de cultivo adecuado para comprobar su viabilidad antes del ensayo.

Preparación del inóculo e inoculación: A partir de las cepas activadas se prepararon suspensiones bacterianas en solución salina, ajustadas al estándar 0,5 de McFarland. Cada suspensión se distribuyó de manera homogénea sobre la superficie de placas con agar Mueller-Hinton, manteniendo condiciones asépticas durante el procedimiento.

Preparación de los pozos y aplicación de los tratamientos: Se realizaron pozos estériles de 6 mm de diámetro. En cada ensayo se dispusieron las tres concentraciones del extracto y los controles. Las muestras líquidas se aplicaron en un volumen de 50 μL , según el registro experimental. Cada condición se evaluó en 10 repeticiones por cepa.

❖ Extracto etanólico de *Brassica oleracea* al 25 %.

- ❖ Extracto etanólico de *Brassica oleracea* al 50 %.
- ❖ Extracto etanólico de *Brassica oleracea* al 75 %.
- ❖ Control positivo: ciprofloxacino de 5 µg.
- ❖ Control negativo: dimetilsulfóxido.

Incubación, medición e interpretación: Las placas se incubaron a 37 °C durante 24 horas, temperatura comprendida en el rango operativo de 35 ± 2 °C. Luego se midió el diámetro total de las zonas de inhibición con un dispositivo digital. Debido a que los pozos tuvieron 6 mm de diámetro, un registro de 6,00 mm representó ausencia de inhibición adicional alrededor del pozo. Los resultados se clasificaron de acuerdo con los intervalos establecidos en la escala utilizada en el proyecto (55).

2.8. Plan de análisis

Los datos se registraron inicialmente en una hoja de cálculo de Excel y posteriormente se analizaron en SPSS. Las pruebas se realizaron por separado para *Escherichia coli* y *Salmonella enterica*. El análisis descriptivo incluyó número de observaciones, media, mediana, desviación estándar e intervalo de confianza del 95 %. La normalidad se evaluó con la prueba de Shapiro-Wilk; en los grupos con valores constantes y varianza igual a cero, esta prueba se consideró no aplicable. La homogeneidad de varianzas se examinó mediante la prueba de Levene. Para comparar las cinco condiciones experimentales se aplicó un ANOVA de un factor y, debido a la ausencia de homogeneidad de varianzas, se utilizaron comparaciones múltiples mediante la prueba T3 de Dunnett. Se consideró un nivel de significancia de 0,05. Los resultados de solubilidad y de la marcha fitoquímica se presentaron de manera descriptiva mediante categorías cualitativas (51).

2.9. Aspectos éticos y de integridad científica

El estudio se desarrolló bajo principios de integridad científica y bioseguridad aplicables a una investigación *in vitro*. No participaron seres humanos ni animales; se trabajó exclusivamente con material vegetal y cepas bacterianas de referencia. La procedencia del material vegetal y la identificación de las cepas fueron registradas para asegurar la trazabilidad del procedimiento. Durante la manipulación de los microorganismos, los solventes y los reactivos se aplicaron medidas de protección, desinfección y disposición de residuos biológicos y químicos. Asimismo, se mantuvo el registro fiel de las observaciones y se evitó la alteración, omisión o fabricación de datos, con el propósito de favorecer la reproducibilidad y la transparencia de los resultados (56).

III. RESULTADOS

Los hallazgos se organizaron en tres momentos. Primero se presenta el comportamiento de los halos de inhibición en las dos cepas y en los cinco tratamientos evaluados. Luego se describen la solubilidad y el perfil fitoquímico del extracto. Finalmente, se reportan las pruebas de supuestos, el análisis de varianza y las comparaciones post hoc empleadas para precisar las diferencias entre los grupos.

Tabla 5. Síntesis descriptiva de la respuesta antibacteriana por tratamiento y cepa bacteriana

Cepa bacteriana	Tratamiento	Diámetro medio observado (mm)	Interpretación descriptiva
<i>Escherichia coli</i>	DMSO (control negativo)	6,00	Sin inhibición adicional; actividad nula (-)
	Extracto etanólico 25 %	6,00	Sin inhibición adicional; actividad nula (-)
	Extracto etanólico 50 %	6,00	Sin inhibición adicional; actividad nula (-)
	Extracto etanólico 75 %	6,00	Sin inhibición adicional; actividad nula (-)
	Ciprofloxacino 5 µg (control positivo)	37,39	Sumamente sensible (+++)
<i>Salmonella enterica</i>	DMSO (control negativo)	6,00	Sin inhibición adicional; actividad nula (-)
	Extracto etanólico 25 %	6,00	Sin inhibición adicional; actividad nula (-)
	Extracto etanólico 50 %	8,14	Sensibilidad límite (+)
	Extracto etanólico 75 %	10,04	Sensibilidad límite (+)
	Ciprofloxacino 5 µg (control positivo)	33,07	Sumamente sensible (+++)

Nota. Cada media corresponde a 10 repeticiones. El valor de 6,00 mm coincide con el diámetro del pozo y representa ausencia de inhibición adicional. La clasificación se realizó con los intervalos definidos en la Tabla 4. Fuente: base de datos del estudio.

Como se resume en la Tabla 5, frente a *Escherichia coli* el DMSO y las tres concentraciones del extracto mantuvieron un diámetro medio de 6,00 mm, valor que coincide con el tamaño inicial del pozo. En estos grupos no se observó inhibición adicional, mientras que el ciprofloxacino 5 µg alcanzó 37,39 mm. En *Salmonella enterica*, el DMSO y el extracto al 25 % también registraron 6,00 mm; en cambio, las concentraciones de 50 % y 75 % alcanzaron 8,14 mm y 10,04 mm, respectivamente. El control positivo presentó una media de 33,07 mm. Por tanto, la respuesta del extracto se observó únicamente frente a *Salmonella enterica* y a partir de la concentración de 50 %.

Tabla 6. Estadísticos descriptivos del diámetro de los halos de inhibición por cepa y tratamiento

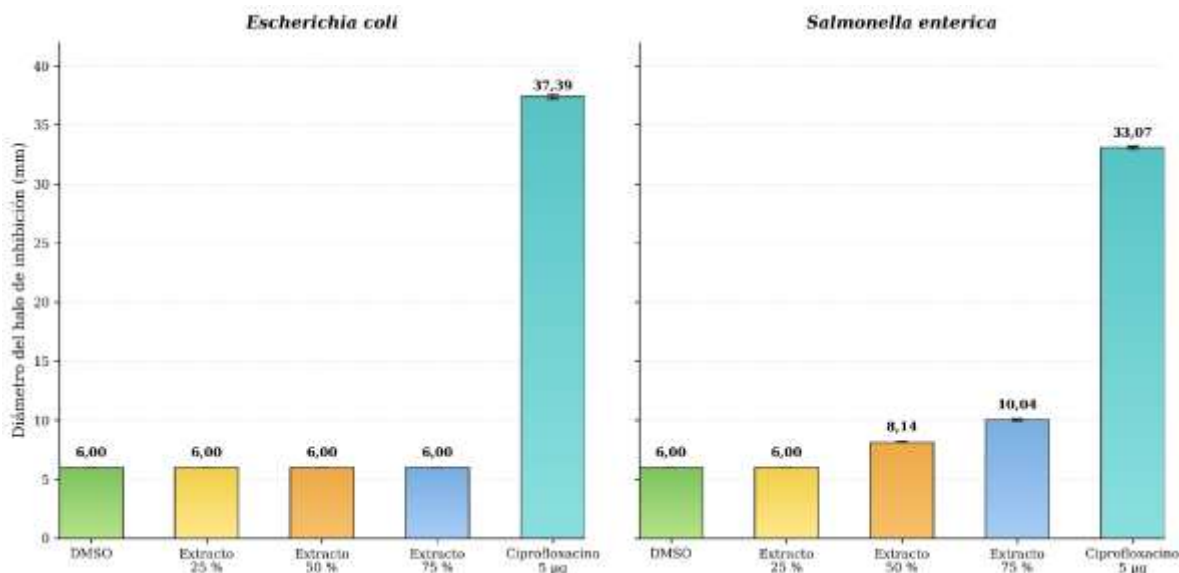
Cepa bacteriana	Tratamiento	n	Media (mm)	Mediana (mm)	DE (mm)	IC 95 % de la media (mm)
<i>Escherichia coli</i>	DMSO (control negativo)	10	6,00	6,00	0,00	6,00–6,00

Cepa bacteriana	Tratamiento	n	Media (mm)	Mediana (mm)	DE (mm)	IC 95 % de la media (mm)
<i>Salmonella enterica</i>	Extracto etanólico 25 %	10	6,00	6,00	0,00	6,00–6,00
	Extracto etanólico 50 %	10	6,00	6,00	0,00	6,00–6,00
	Extracto etanólico 75 %	10	6,00	6,00	0,00	6,00–6,00
	Ciprofloxacino 5 µg (control positivo)	10	37,39	37,47	0,26	37,20–37,58
	DMSO (control negativo)	10	6,00	6,00	0,00	6,00–6,00
	Extracto etanólico 25 %	10	6,00	6,00	0,00	6,00–6,00
	Extracto etanólico 50 %	10	8,14	8,13	0,07	8,09–8,19
	Extracto etanólico 75 %	10	10,04	10,06	0,14	9,93–10,14
	Ciprofloxacino 5 µg (control positivo)	10	33,07	33,11	0,20	32,92–33,21

Nota. n = número de repeticiones; DE = desviación estándar; IC 95 % = intervalo de confianza del 95 % para la media. Cada tratamiento incluyó 10 repeticiones por cepa. Los valores constantes de 6,00 mm presentan DE = 0,00 e IC 95 % de 6,00–6,00. Fuente: base de datos del estudio.

Los estadísticos descriptivos de la Tabla 6 muestran que los grupos con un valor constante de 6,00 mm no variaron entre las diez repeticiones (DE = 0,00; IC 95 %: 6,00–6,00). Frente a *Escherichia coli*, el ciprofloxacino alcanzó $37,39 \pm 0,26$ mm (IC 95 %: 37,20–37,58). En *Salmonella enterica*, los extractos al 50 % y 75 % registraron $8,14 \pm 0,07$ mm y $10,04 \pm 0,14$ mm, respectivamente, mientras que el ciprofloxacino alcanzó $33,07 \pm 0,20$ mm. La poca amplitud de los intervalos refleja una variación reducida entre las mediciones de cada tratamiento. Esta comparación se aprecia de manera gráfica en la Figura 3.

Figura 3. Medias e intervalos de confianza del 95 % de los halos de inhibición por tratamiento y cepa bacteriana



Nota. Las barras representan las medias y las líneas de error, los intervalos de confianza del 95 %. Los valores de 6,00 mm corresponden al diámetro basal del pozo y representan ausencia de inhibición adicional. Fuente: base de datos del estudio.

Tabla 7. Solubilidad del extracto etanólico en diferentes solventes

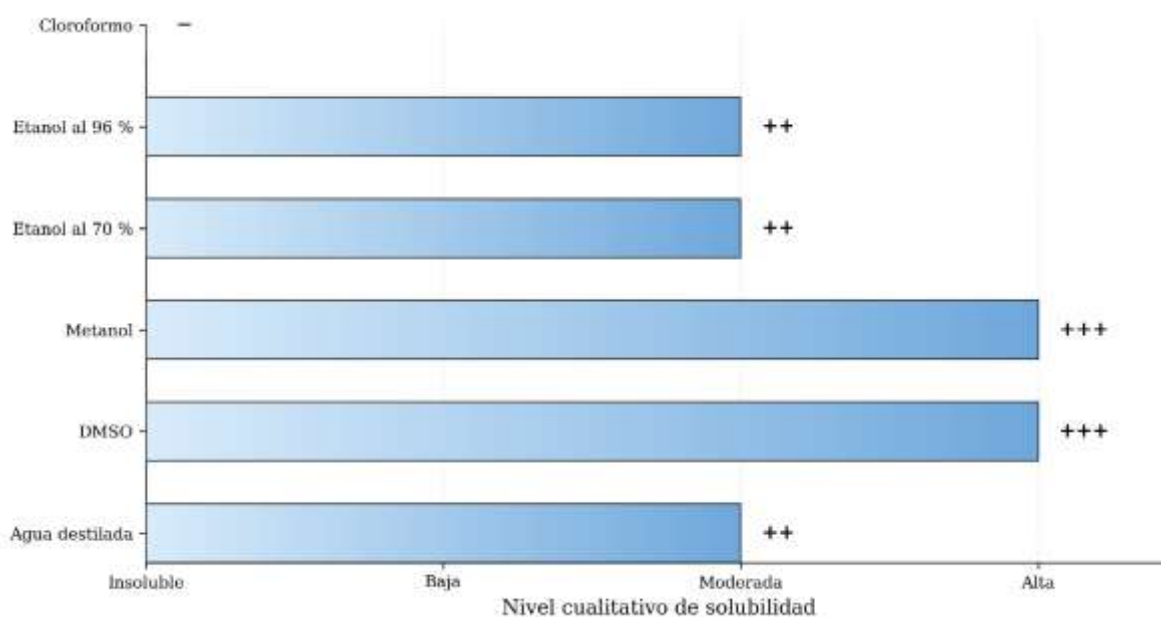
N.º de tubo	Solvente	Resultado cualitativo	Interpretación
1	Cloroformo	—	Insoluble
2	Etanol al 96 %	++	Solubilidad moderada

N.º de tubo	Solvente	Resultado cualitativo	Interpretación
3	Etanol al 70 %	++	Solubilidad moderada
4	Metanol	+++	Alta solubilidad
5	Dimetilsulfóxido (DMSO)	+++	Alta solubilidad
6	Agua destilada	++	Solubilidad moderada

Nota. Escala cualitativa: - = insoluble; + = baja solubilidad; ++ = solubilidad moderada; +++ = alta solubilidad. Elaboración propia a partir del registro de laboratorio.

El ensayo de solubilidad mostró una respuesta distinta según el solvente empleado (Tabla 7). El extracto fue altamente soluble en metanol y dimetilsulfóxido (+++), presentó solubilidad moderada en etanol al 96 %, etanol al 70 % y agua destilada (++) , y permaneció insoluble en cloroformo (-). Este patrón se representa en la Figura 4.

Figura 4. Perfil cualitativo de solubilidad del extracto etanólico



Nota. Escala cualitativa: 0 = insoluble (-), 1 = baja solubilidad (+), 2 = solubilidad moderada (++) , 3 = alta solubilidad (+++). Elaboración propia a partir del registro de laboratorio.

Tabla 8. Perfil fitoquímico cualitativo del extracto etanólico

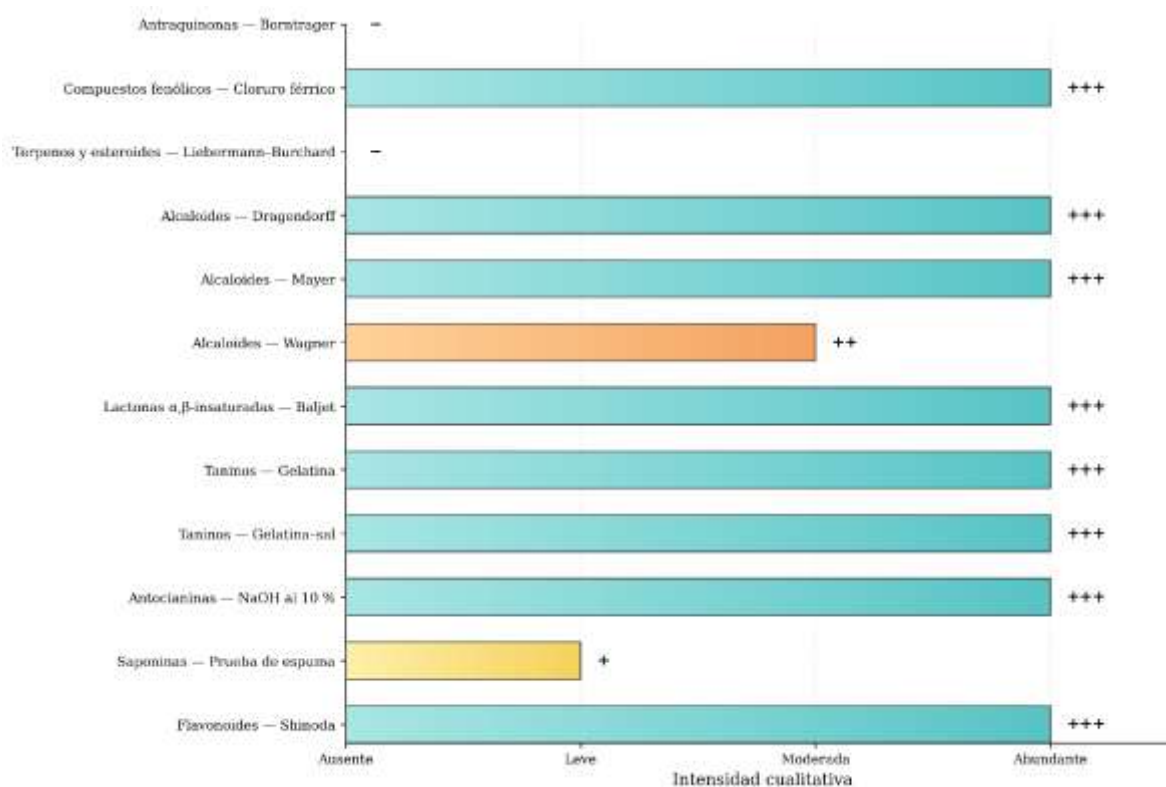
N.º	Metabolito secundario	Ensayo cualitativo	Resultado	Interpretación
1	Antraquinonas	Borntrager	-	Ausente
2	Compuestos fenólicos	Cloruro férrico	+++	Presencia abundante
3	Terpenos y esteroides	Liebermann-Burchard	-	Ausente
4	Alcaloides	Dragendorff	+++	Presencia abundante
5	Alcaloides	Mayer	+++	Presencia abundante
6	Alcaloides	Wagner	++	Presencia moderada
7	Lactonas α,β -insaturadas	Baljet	+++	Presencia abundante

N.º	Metabolito secundario	Ensayo cualitativo	Resultado	Interpretación
8	Taninos	Gelatina	+++	Presencia abundante
9	Taninos	Gelatina-sal	+++	Presencia abundante
10	Antocianinas	NaOH al 10 %	+++	Presencia abundante
11	Saponinas	Prueba de espuma (agua destilada)	+	Presencia leve
12	Flavonoides	Shinoda	+++	Presencia abundante

Nota. Escala cualitativa: - = ausente; + = presencia leve; ++ = presencia moderada; +++ = presencia abundante. Elaboración propia a partir del informe de análisis fitoquímico del laboratorio.

El perfil fitoquímico cualitativo permitió identificar una presencia abundante (+++) de compuestos fenólicos, lactonas α,β -insaturadas, taninos, antocianinas y flavonoides (Tabla 8). Los alcaloides también mostraron presencia abundante con las pruebas de Dragendorff y Mayer, y una respuesta moderada (++) con Wagner. Las saponinas presentaron una valoración leve (+), mientras que no se detectaron antraquinonas, terpenos ni esteroides. La Figura 5 resume visualmente estas valoraciones. Estos hallazgos caracterizan la composición cualitativa del extracto, pero no permiten atribuir la actividad antibacteriana a un metabolito en particular.

Figura 5. Perfil fitoquímico cualitativo del extracto etanólico



Nota. Escala cualitativa: 0 = ausente (-), 1 = presencia leve (+), 2 = presencia moderada (++), 3 = presencia abundante (+++). Elaboración propia a partir del informe de análisis fitoquímico.

Tabla 9. Evaluación de la normalidad de los halos de inhibición mediante Shapiro-Wilk

Cepa bacteriana	Tratamiento	n	W	p	Evaluación
<i>Escherichia coli</i>	Ciprofloxacino 5 µg	10	0,813	0,021	No compatible con normalidad
<i>Escherichia coli</i>	Dimetilsulfóxido (DMSO)	10	NC	NC	No evaluable: varianza cero

Cepa bacteriana	Tratamiento	n	W	p	Evaluación
<i>Escherichia coli</i>	Extracto etanólico al 25 %	10	NC	NC	No evaluable: varianza cero
<i>Escherichia coli</i>	Extracto etanólico al 50 %	10	NC	NC	No evaluable: varianza cero
<i>Escherichia coli</i>	Extracto etanólico al 75 %	10	NC	NC	No evaluable: varianza cero
<i>Salmonella enterica</i>	Ciprofloxacino 5 µg	10	0,940	0,557	Compatible con normalidad
<i>Salmonella enterica</i>	Dimetilsulfóxido (DMSO)	10	NC	NC	No evaluable: varianza cero
<i>Salmonella enterica</i>	Extracto etanólico al 25 %	10	NC	NC	No evaluable: varianza cero
<i>Salmonella enterica</i>	Extracto etanólico al 50 %	10	0,973	0,920	Compatible con normalidad
<i>Salmonella enterica</i>	Extracto etanólico al 75 %	10	0,959	0,772	Compatible con normalidad

Nota. n = número de repeticiones; W = estadístico de Shapiro–Wilk; NC = no calculable. Se consideró compatibilidad con normalidad cuando $p > 0,05$. En los grupos con diez valores idénticos (6,00 mm), la prueba no fue calculable por presentar varianza cero. Elaboración propia a partir de la base de datos del estudio.

La prueba de Shapiro–Wilk solo pudo estimarse en los grupos que presentaron variabilidad (Tabla 9). En *Escherichia coli*, los valores del ciprofloxacino no fueron compatibles con una distribución normal ($W = 0,813$; $p = 0,021$). En *Salmonella enterica*, el ciprofloxacino y los extractos al 50 % y 75 % presentaron valores de p superiores a 0,05. En los grupos con diez mediciones idénticas de 6,00 mm, la prueba no fue calculable por ausencia de variación. En consecuencia, la normalidad no se cumplió de manera uniforme en todos los tratamientos.

Tabla 10. ANOVA de un factor para los halos de inhibición según tratamiento

Cepa bacteriana	Fuente de variación	SC	gl	CM	F	p
<i>Escherichia coli</i>	Entre tratamientos	7882,657	4	1970,664	143448,543	< 0,001
	Dentro de tratamientos	0,618	45	0,014	NA	NA
	Total	7883,275	49	NA	NA	NA
<i>Salmonella enterica</i>	Entre tratamientos	5323,813	4	1330,953	103374,115	< 0,001
	Dentro de tratamientos	0,579	45	0,013	NA	NA
	Total	5324,392	49	NA	NA	NA

Nota. SC = suma de cuadrados; gl = grados de libertad; CM = media cuadrática; F = estadístico de Fisher. Se consideró diferencia estadísticamente significativa cuando $p < 0,05$. NA = no aplica, porque el estadístico no corresponde a esa fuente de variación. Elaboración propia a partir de la base de datos del estudio.

El análisis de varianza identificó diferencias globales entre los tratamientos en ambas cepas. Para *Escherichia coli* se obtuvo $F(4,45) = 143\,448,543$; $p < 0,001$, y para *Salmonella enterica*, $F(4,45) = 103\,374,115$; $p < 0,001$ (Tabla 10). Estos resultados muestran que, dentro de cada cepa, no todas las medias fueron iguales. Las diferencias específicas se examinaron posteriormente mediante comparaciones múltiples.

Tabla 11. Prueba de Levene basada en la mediana para la homogeneidad de varianzas

Cepa bacteriana	Estadístico de Levene	gl1	gl2	p	Evaluación
<i>Escherichia coli</i>	6,477	4	45	< 0,001	Varianzas no homogéneas
<i>Salmonella enterica</i>	9,773	4	45	< 0,001	Varianzas no homogéneas

Nota. gl1 = grados de libertad del numerador; gl2 = grados de libertad del denominador; p = significancia estadística. Se consideró falta de homogeneidad cuando $p < 0,05$. Fuente: base de datos del estudio procesada estadísticamente.

La prueba de Levene basada en la mediana fue significativa para *Escherichia coli* (6,477; $p < 0,001$) y *Salmonella enterica* (9,773; $p < 0,001$), como se presenta en la Tabla 11. Este resultado indicó que las varianzas no fueron homogéneas en ninguna de las dos

cepas. Por ese motivo, las comparaciones posteriores se realizaron con la prueba T3 de Dunnett, adecuada cuando no se asume igualdad de varianzas.

Tabla 12. Comparaciones seleccionadas de los tratamientos frente a los controles mediante T3 de Dunnett

Cepa bacteriana	Comparación (I – J)	Diferencia de medias (mm)	IC 95 % (mm)	p	Evaluación
<i>Escherichia coli</i>	Ciprofloxacino 5 µg – DMSO	31,390	31,096 a 31,684	< 0,001	Significativa
<i>Escherichia coli</i>	Ciprofloxacino 5 µg – Extracto 25 %	31,390	31,096 a 31,684	< 0,001	Significativa
<i>Escherichia coli</i>	Ciprofloxacino 5 µg – Extracto 50 %	31,390	31,096 a 31,684	< 0,001	Significativa
<i>Escherichia coli</i>	Ciprofloxacino 5 µg – Extracto 75 %	31,390	31,096 a 31,684	< 0,001	Significativa
<i>Escherichia coli</i>	DMSO – Extracto 25 %	0,000	0,000 a 0,000	1,000	No significativa
<i>Escherichia coli</i>	DMSO – Extracto 50 %	0,000	0,000 a 0,000	1,000	No significativa
<i>Escherichia coli</i>	DMSO – Extracto 75 %	0,000	0,000 a 0,000	1,000	No significativa
<i>Salmonella enterica</i>	Ciprofloxacino 5 µg – DMSO	27,065	26,845 a 27,285	< 0,001	Significativa
<i>Salmonella enterica</i>	Ciprofloxacino 5 µg – Extracto 25 %	27,065	26,845 a 27,285	< 0,001	Significativa
<i>Salmonella enterica</i>	Ciprofloxacino 5 µg – Extracto 50 %	24,924	24,701 a 25,147	< 0,001	Significativa
<i>Salmonella enterica</i>	Ciprofloxacino 5 µg – Extracto 75 %	23,029	22,784 a 23,274	< 0,001	Significativa
<i>Salmonella enterica</i>	DMSO – Extracto 25 %	0,000	0,000 a 0,000	1,000	No significativa
<i>Salmonella enterica</i>	DMSO – Extracto 50 %	-2,141	-2,223 a -2,059	< 0,001	Significativa
<i>Salmonella enterica</i>	DMSO – Extracto 75 %	-4,036	-4,198 a -3,875	< 0,001	Significativa

Nota. DMSO = dimetilsulfóxido, control negativo; ciprofloxacino 5 µg = control positivo; IC 95 % = intervalo de confianza del 95 %. La diferencia se calculó como media del grupo I menos media del grupo J; un valor negativo indica una media mayor en el grupo J. Se consideró diferencia significativa cuando $p < 0,05$. Se presentan las comparaciones de cada tratamiento frente a los controles; las relaciones entre concentraciones se sintetizarán en la Tabla 13. Fuente: base de datos del estudio, procesada en IBM SPSS Statistics.

Las comparaciones post hoc permitieron precisar el origen de las diferencias observadas. En *Escherichia coli*, el ciprofloxacino superó en 31,390 mm al DMSO y a cada una de las concentraciones del extracto ($p < 0,001$). Por su parte, el DMSO y los extractos al 25 %, 50 % y 75 % no difirieron entre sí, ya que todos conservaron una media de 6,00 mm ($p = 1,000$).

En *Salmonella enterica*, el ciprofloxacino también presentó una media mayor que la de todos los demás tratamientos ($p < 0,001$). El extracto al 25 % no se diferenció del DMSO ($p = 1,000$). En cambio, las concentraciones de 50 % y 75 % superaron al control negativo en 2,141 mm y 4,036 mm, respectivamente, con diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,001$).

Tabla 13. Agrupación de tratamientos por cepa según comparaciones múltiples T3 de Dunnett

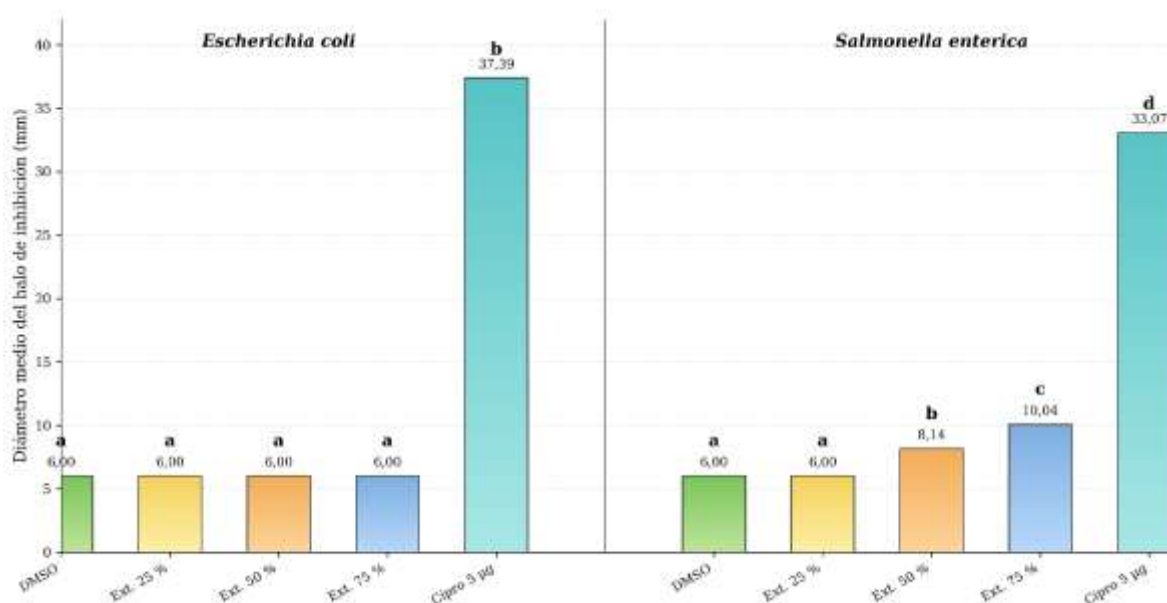
Cepa bacteriana	Tratamiento	n	Media del halo (mm)	Grupo estadístico
<i>Escherichia coli</i>	DMSO	10	6,00	a
<i>Escherichia coli</i>	Extracto 25 %	10	6,00	a

Cepa bacteriana	Tratamiento	n	Media del halo (mm)	Grupo estadístico
<i>Escherichia coli</i>	Extracto 50 %	10	6,00	a
<i>Escherichia coli</i>	Extracto 75 %	10	6,00	a
<i>Escherichia coli</i>	Ciprofloxacino 5 µg	10	37,39	b
<i>Salmonella enterica</i>	DMSO	10	6,00	a
<i>Salmonella enterica</i>	Extracto 25 %	10	6,00	a
<i>Salmonella enterica</i>	Extracto 50 %	10	8,14	b
<i>Salmonella enterica</i>	Extracto 75 %	10	10,04	c
<i>Salmonella enterica</i>	Ciprofloxacino 5 µg	10	33,07	d

Nota. DMSO = dimetilsulfóxido, control negativo; ciprofloxacino 5 µg = control positivo; n = número de repeticiones por tratamiento. Las letras se interpretan de manera independiente dentro de cada cepa: tratamientos con la misma letra no presentan diferencias significativas; tratamientos con letras diferentes presentan diferencias significativas (T3 de Dunnett, $p < 0,05$). Fuente: base de datos del estudio, procesada en IBM SPSS Statistics.

La agrupación por letras de la Tabla 13 resume el patrón completo de comparaciones. En *Escherichia coli*, el DMSO y los extractos al 25 %, 50 % y 75 % compartieron el grupo a, mientras que el ciprofloxacino integró el grupo b. En *Salmonella enterica* se distinguieron cuatro grupos: DMSO y extracto al 25 % (a), extracto al 50 % (b), extracto al 75 % (c) y ciprofloxacino (d). La separación de las concentraciones de 50 % y 75 % en grupos distintos muestra que sus medias difirieron entre sí, aunque ninguna alcanzó la respuesta del control positivo. La Figura 6 presenta esta agrupación de manera visual.

Figura 6. Agrupación estadística de los tratamientos según cepa bacteriana



Nota. Las letras se interpretan de manera independiente dentro de cada cepa. Tratamientos con la misma letra no presentan diferencias significativas y tratamientos con letras diferentes presentan diferencias significativas según T3 de Dunnett ($p < 0,05$). Fuente: base de datos del estudio.

En conjunto, los resultados no respaldaron la hipótesis general tal como fue formulada, porque no se demostró una actividad antibacteriana generalizable a las dos cepas. La señal inhibitoria se limitó a *Salmonella enterica* en las concentraciones de 50 % y 75 %, con la mayor respuesta al 75 %, aunque de magnitud reducida. El análisis fitoquímico confirmó la presencia de diversos metabolitos secundarios; sin embargo, el diseño del estudio no permitió identificar cuál de ellos participó en el efecto observado. La hipótesis referida a *Escherichia coli* no recibió respaldo, la

correspondiente a *Salmonella enterica* fue respaldada solo de forma parcial y la hipótesis que planteaba una actividad superior a la del ciprofloxacino fue rechazada.

IV. DISCUSIÓN

El resultado más relevante fue la respuesta desigual del extracto ante las dos bacterias estudiadas. Mientras las tres concentraciones permanecieron en 6,00 mm frente a *Escherichia coli*, sin superar el diámetro del pozo ni al control negativo, en *Salmonella enterica* se registró una inhibición adicional con 50 % y 75 %. Por ello, el efecto no puede describirse como general para ambas cepas: fue selectivo, limitado y circunscrito a *Salmonella enterica* bajo las condiciones del ensayo.

En *Salmonella enterica*, la media del halo aumentó conforme se elevó la concentración del extracto. El tratamiento al 25 % se comportó como el dimetilsulfóxido; en cambio, 50 % y 75 % alcanzaron 8,14 mm y 10,04 mm y se separaron estadísticamente del control negativo y entre sí. El patrón guarda relación con lo comunicado por Marquina B. y Vilcamango A. (23), quienes observaron mayor inhibición al incrementar la concentración de un extracto vegetal, y con Murillo A. (22), que reportó actividad de un extracto etanólico frente a *Salmonella*. También resulta próximo al halo de 10,50 mm descrito por Narváez K. y Quiroz M. (24). Estas semejanzas, sin embargo, no implican equivalencia directa, pues los estudios difieren en especie vegetal, preparación, concentración, método y cepa.

La diferencia estadística encontrada en *Salmonella enterica* debe leerse junto con la magnitud real del halo. Si se descuenta el pozo de 6 mm, la inhibición adicional fue de 2,14 mm con 50 % y de 4,04 mm con 75 %. Se trata, por tanto, de una respuesta reproducible y distinguible del control, pero todavía pequeña en términos biológicos. Asimismo, los tres niveles evaluados permiten reconocer un comportamiento creciente, aunque no bastan para establecer una relación dosis-respuesta formal ni para estimar un punto óptimo de concentración.

El comportamiento frente a *Escherichia coli* fue distinto: ninguna concentración produjo inhibición adicional. Este resultado coincide con Castro A. (21), quien no encontró actividad de extractos de *Psidium guajava* contra esta bacteria, y se aproxima a Alani H. et al. (17), cuyos extractos tampoco mostraron actividad antimicrobiana en los microorganismos estudiados. En contraste, Rahmani M. et al. (20) comunicaron un halo de 15,67 mm con extractos de *Brassica oleracea*, y Protska V. et al. (18) señalaron potencial inhibitorio frente a *Escherichia coli* y *Salmonella enterica*. La discrepancia sugiere que la respuesta depende no solo de la especie vegetal, sino también de la variedad, la parte empleada, el solvente, la extracción, la concentración final, la cepa y la difusión de los compuestos en el agar.

El tamizaje fitoquímico mostró presencia abundante de compuestos fenólicos, alcaloides, lactonas α,β -insaturadas, taninos, antocianinas y flavonoides, además de saponinas en menor intensidad. El perfil coincide parcialmente con Narváez K. y Quiroz M. (24), quienes identificaron compuestos fenólicos, taninos y flavonoides, y con Paima W. y Ríos A. (25), que reportaron taninos, lactonas y saponinas en extractos con actividad antibacteriana. Aun así, el hallazgo

fitoquímico no permite asignar el efecto a una sustancia concreta. El análisis fue cualitativo y se trabajó con un extracto crudo; en consecuencia, no se conocen las cantidades, la estabilidad ni las posibles interacciones entre sus componentes.

La amplitud de los halos producidos por ciprofloxacino —37,39 mm en *Escherichia coli* y 33,07 mm en *Salmonella enterica*— marcó una diferencia clara respecto del extracto. Este comportamiento es consistente con Murillo A. (22) y Narváez K. y Quiroz M. (24), quienes también encontraron mayor actividad en los antibióticos de referencia. La comparación debe entenderse en su contexto: el ciprofloxacino es un principio activo estandarizado, mientras que el extracto reúne compuestos en proporciones variables y con distinta capacidad de difusión. Los datos, por tanto, no respaldan una sustitución del antibiótico, sino la existencia de una señal preliminar que merece ser delimitada químicamente.

El análisis estadístico permitió precisar de dónde procedían las diferencias globales. En *Escherichia coli*, el ANOVA significativo se explicó por la separación del ciprofloxacino frente a los demás grupos; no reflejó actividad del extracto, cuyas tres concentraciones fueron idénticas al control negativo. En *Salmonella enterica*, por el contrario, las comparaciones T3 de Dunnett mostraron que 50 % y 75 % superaron al dimetilsulfóxido y también difirieron entre sí. La lectura de las pruebas *post hoc* y de la agrupación de tratamientos fue, por ello, indispensable para evitar una interpretación excesiva del resultado global de las Tablas 10 a 13.

Los supuestos estadísticos tampoco se cumplieron de manera homogénea. La prueba de Shapiro-Wilk no pudo estimarse en grupos con varianza cero, y el ciprofloxacino frente a *Escherichia coli* no mostró compatibilidad con normalidad. A esto se sumó la heterogeneidad de varianzas detectada por Levene en ambas cepas. El uso de T3 de Dunnett fue pertinente ante esa desigualdad, pero la inferencia debe sostenerse en conjunto con las medias, la dispersión y el patrón observado. Esa lectura integrada conduce a una conclusión estable: ausencia de efecto en *Escherichia coli* y efecto pequeño, aunque estadísticamente diferenciable, en *Salmonella enterica*.

Al contrastar los hallazgos con las hipótesis, la hipótesis general recibió solo respaldo parcial, pues anticipaba actividad sobre ambas bacterias. La hipótesis específica planteada para *Escherichia coli* no fue respaldada, mientras que la correspondiente a *Salmonella enterica* se sostuvo únicamente para 50 % y 75 %. También se rechazó la hipótesis que proponía una actividad mayor que la del ciprofloxacino. La presencia de metabolitos secundarios sí fue comprobada cualitativamente, aunque este resultado describe el perfil del extracto y no identifica el mecanismo responsable de la inhibición.

La consistencia interna del experimento se fortaleció mediante el empleo de cepas ATCC, la estandarización del inóculo, la inclusión de controles positivo y negativo y diez repeticiones por

tratamiento y por cepa. Analizar cada microorganismo por separado fue especialmente importante, porque evitó diluir dos comportamientos biológicos claramente distintos en una sola conclusión general. La repetición del mismo patrón en los ensayos permite sostener que el resultado no se debió a una observación aislada.

El alcance de los hallazgos está condicionado por el carácter *in vitro* y por el método de difusión en agar. Solo se evaluó una cepa de referencia por especie, y el tamaño del halo dependió tanto de la actividad del compuesto como de su capacidad para difundirse en el medio. Tampoco se determinaron la concentración mínima inhibitoria ni la bactericida, no se cuantificaron metabolitos, no se estandarizó el extracto con marcadores químicos y no se compararon lotes de preparación. En consecuencia, los resultados no deben extrapolarse de manera directa a cepas clínicas, a otros métodos microbiológicos ni a un uso terapéutico.

En síntesis, el estudio delimitó una respuesta antibacteriana selectiva del extracto etanólico de hojas de *Brassica oleracea*: no hubo efecto frente a *Escherichia coli* y la mejor respuesta se observó frente a *Salmonella enterica* con 75 %, aunque con una magnitud reducida. Su principal contribución no radica en proponer un reemplazo antimicrobiano, sino en identificar una señal experimental concreta y sus límites. Para determinar si esa señal puede fortalecerse, será necesario fraccionar y cuantificar el extracto, establecer la concentración mínima inhibitoria y bactericida, ampliar el número de cepas y comprobar la reproducibilidad entre lotes.

V. CONCLUSIONES

Bajo las condiciones del ensayo, el extracto etanólico de hojas de *Brassica oleracea* no mostró actividad antibacteriana frente a ambas bacterias. La respuesta se limitó a *Salmonella enterica* en las concentraciones de 50 % y 75 % y fue de baja magnitud, mientras que *Escherichia coli* no presentó inhibición adicional. En consecuencia, la hipótesis general recibió respaldo parcial y el aporte central del estudio fue delimitar una respuesta selectiva, no demostrar una actividad antimicrobiana de amplio espectro.

El extracto presentó un perfil fitoquímico diverso, con abundancia cualitativa de compuestos fenólicos, alcaloides, lactonas α,β -insaturadas, taninos, antocianinas y flavonoides, además de saponinas en presencia leve. Este hallazgo sustenta el interés por continuar el análisis químico del material vegetal, pero no permite atribuir la inhibición a un metabolito específico, debido a que se evaluó un extracto crudo mediante pruebas cualitativas.

Frente a *Escherichia coli*, las concentraciones de 25 %, 50 % y 75 % registraron 6,00 mm, el mismo valor observado con el control negativo. La ausencia de un halo adicional fue consistente en las diez repeticiones, por lo que no se respaldó la hipótesis específica de actividad antibacteriana contra esta cepa.

Frente a *Salmonella enterica*, el extracto al 25 % no superó al control negativo, mientras que 50 % y 75 % alcanzaron halos medios de 8,14 mm y 10,04 mm, respectivamente. Las diferencias fueron estadísticamente significativas y mostraron una respuesta creciente con la concentración; sin embargo, al descontar el diámetro del pozo, la inhibición adicional fue reducida. Por ello, el hallazgo representa una señal antibacteriana preliminar y no una evidencia de alta potencia.

El ciprofloxacino de 5 μ g produjo halos de 37,39 mm frente a *Escherichia coli* y 33,07 mm frente a *Salmonella enterica*, y superó ampliamente a todas las concentraciones del extracto. Se rechazó, por tanto, la hipótesis de superioridad del extracto respecto del antibiótico de referencia. Los resultados no sustentan su uso como sustituto terapéutico, pero sí justifican estudios posteriores orientados a estandarizar, fraccionar y evaluar con mayor precisión los componentes responsables de la respuesta observada en *Salmonella enterica*.

VI. RECOMENDACIONES

Estandarizar la preparación del extracto mediante el registro del rendimiento, el control de humedad y la cuantificación de uno o más marcadores químicos, con el fin de comparar resultados entre lotes y reducir la variabilidad propia de un extracto crudo.

Determinar la concentración mínima inhibitoria y la concentración mínima bactericida del extracto y de sus fracciones activas, utilizando métodos de microdilución que complementen la información obtenida por difusión en agar.

Ampliar la evaluación a varias cepas de referencia y a aislamientos clínicos de *Salmonella enterica* y *Escherichia coli*, manteniendo controles y repeticiones suficientes para establecer si el patrón observado se conserva entre cepas.

Comparar solventes, métodos de extracción y fracciones de distinta polaridad, especialmente en la concentración de 75 %, para identificar qué preparación concentra mejor la actividad observada sin asumir que el extracto total es la forma más eficaz.

Antes de plantear aplicaciones preclínicas o terapéuticas, incorporar pruebas de estabilidad, citotoxicidad y reproducibilidad entre lotes. La continuidad de la investigación debe sustentarse en una actividad microbiológica más definida y en la identificación de los componentes responsables del efecto.

REFERENCIAS

1. Adamowicz E, Muza M, Chacón J, Harcombe W. Cross-feeding modulates the rate and mechanism of antibiotic resistance evolution in a model microbial community of *Escherichia coli* and *Salmonella enterica*. *Plos Pathog* [Internet]. 2020;2(1):1-10. Disponible en: <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1008700>
2. Puangseree J, Prathan R, Srisanga S, Angkittitrakul S. Plasmid profile analysis of *Escherichia coli* and *Salmonella enterica* isolated from pigs, pork and humans. *Epidemiol Infect* [Internet]. 2022;150(1):2-14. Disponible en: <https://doi.org/10.1017/S0950268822000814>
3. Reyes S. Circunspecciones sobre doenças transmitidas por alimentos. *Rev científica Mundo las Ciencias* [Internet]. 2017;3(1):299-310. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=6134932>
4. Organización Mundial de la Salud (OMS). OMS. 2024. Enfermedades de transmisión alimentaria. Disponible en: https://www.who.int/es/health-topics/foodborne-diseases#tab=tab_2
5. Li H, Liu Y, Yang L, Wu X. Prevalence of *Escherichia coli* and Antibiotic Resistance in Animal-Derived Food Samples — Six Districts, Beijing, China, 2020. *China CDC Wkly*. 2020;3(1):999-1007.
6. Belete M, Saravanan M. A Systematic Review on Drug Resistant Urinary Tract Infection Among Pregnant Women in Developing Countries in Africa and Asia 2005–2016. *Infect Drug Resist* [Internet]. 2020;13(1):1-50. Disponible en: <https://doi.org/10.2147/IDR.S250654>
7. European Food Safety Authority. EFSA. 2019. *Salmonella* the most common cause of foodborne outbreaks in the European Union. Disponible en: <https://www.efsa.europa.eu/en/news/salmonella-most-common-cause-foodborne-outbreaks-european-union>
8. Kassraie A. AARP. 2022. Misterioso brote de *E. coli* en el medio oeste del país. Disponible en: <https://www.aarp.org/espanol/salud/enfermedades-y-tratamientos/info-2022/brote-de-e-coli.html>
9. Godínez A, Tmaplin M, Bowman J, Hernández M. *Salmonella enterica* in Mexico

- 2000–2017: Epidemiology, Antimicrobial Resistance, and Prevalence in Food. *Foodborne Pathog Dis* [Internet]. 2020;17(2):1-15. Disponible en: <https://doi.org/10.1089/fpd.2019.2627>
10. Bastidas C, Romero D, Valdez V, Morales R. Extended-Spectrum Beta-Lactamases Producing *Escherichia coli* in South America: A Systematic Review with a One Health Perspective. *Infect Drug Resist* [Internet]. 2022;15(1):1-10. Disponible en: <https://doi.org/10.2147/IDR.S371845>
 11. García J, Appel T, Germán A, Levy G. Update on the epidemiology of carbapenemases in Latin America and the Caribbean. *Expert Rev Anti Infect Ther* [Internet]. 2021;19(2):1-50. Disponible en: <https://doi.org/10.1080/14787210.2020.1813023>
 12. Alzamora M, Echevarría A, Ferraro V, Riveros M. Resistencia Antimicrobiana de cepas comensales de *Escherichia coli* en niños de dos comunidades rurales peruanas. *Rev Peru Med Exp Salud Publica* [Internet]. 2019;36(3):459-64. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1726-46342019000300459&script=sci_abstract
 13. Instituto Nacional de Salud. 22 de Octubre. 2024. p. 1-2 Expertos del INS alertan del riesgo de adquirir *Escherichia coli* en alimentos y vegetales mal lavados y desinfectados inadecuadamente. Disponible en: <https://www.gob.pe/institucion/ins/noticias/1044386-expertos-del-ins-alertan-del-riesgo-de-adquirir-escherichia-coli-en-alimentos-y-vegetales-mal-lavados-y-desinfectados-inadecuadamente>
 14. Ormeno M, Ormeno M, Quispe A, Arias M, Linares E, Loza F. Recurrencia de infecciones del tracto urinario por *Escherichia coli* y su asociación con la resistencia a los antimicrobianos [Internet]. Vol. 1, Concytec. Lima; 2021. Disponible en: <https://repositorio.concytec.gob.pe/entities/publication/ca6fa1f5-0413-4d07-8101-fa1ac3032f53>
 15. Parra V, Rondón C, García C. Salmonelosis invasiva en un hospital de Lima, Perú. *Rev Peru Med Exp Salud Publica* [Internet]. 2019;36(3):1-5. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-46342019000300464

16. Zaineb A, Rasha M. The Study of the Antibacterial Effect of Anthocyanin Pigment Extracted From Red Cabbage (*Brassica oleracea* var. capitata f. rubra) and Red Radish Peels (*Raphanus sativus*. var. sativus). IOP Conf Ser Earth Environ Sci [Internet]. 2024;1371(1):1-13. Disponible en: <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1755-1315/1371/5/052089/meta>
17. Alani H, Ozaslan M, Karagoz I, Simitcioglu B. Investigation of Antimicrobial, DNA Protective and Cytotoxic Activity of Red Cabbage (*Brassica Oleracea* L. Var. Capitata F. Rubra) Plant. Eurasia Proc Sci Technol [Internet]. 2021;1(1):1-10. Disponible en: <https://dergipark.org.tr/en/download/article-file/2139280>
18. Protska V, Fedosov A, Burda N, Dobrovolnyi O. The study of volatile fractions of cabbage leaves (*Brassica oleracea* L. convar. capitata (L.) Alef. var. alba DC.) and determination of its antibacterial and antifungal activity. Chula [Internet]. 2021;45(4):1-9. Disponible en: <https://digital.car.chula.ac.th/tjps/vol45/iss4/6/>
19. Kavishri S, Suganya L, Rajeshkumar S, Ramya R. Exploring the Antimicrobial Potential and Cytotoxic Effects of Different *Brassica oleracea* Varieties. Cureus [Internet]. 2024;16(5):1-10. Disponible en: <https://www.cureus.com/articles/242658-exploring-the-antimicrobial-potential-and-cytotoxic-effects-of-different-brassica-oleracea-varieties#!/>
20. Rahmani M, Esmaeili A, Taherkhani M. Antimicrobial Potential of *Brassica oleracea* Extracts (White and Broccoli) and Their Resistance Compared to Doxycycline Against Gram-Positive and Gram-Negative Bacteria. Food Sci Nutr [Internet]. 2024;12(10):1-12. Disponible en: <https://doi.org/10.1002/fsn3.4345>
21. Castro A. Efecto antibacteriano de los extractos acuosos y etanólicos de *Psidium guajava* frente a *Escherichia coli* betalactamasa de espectro extendido [Internet]. [Tesis para optar el título profesional de médico cirujano] Universidad Científica del sur; 2023. Disponible en: <https://repositorio.cientifica.edu.pe/handle/20.500.12805/3320>
22. Murillo A. Efecto antibacteriano de los extractos acuosos y etanólico de *Psidium guajava* L. frente a *Salmonella typhimurium*, *Salmonella infantis*, *Shigella sonnei* y *Escherichia coli* [Internet]. [Tesis para optar el título profesional de médico cirujano] Universidad Científica del sur; 2022. Disponible en:

<https://repositorio.cientifica.edu.pe/handle/20.500.12805/2752>

23. Marquina B, Vilcamango A. Efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de *Moringa oleífera* (moringa) frente a cepas de *Escherichia coli* atcc 25922 y *Salmonella Typhi* atcc 14028 [Internet]. [Tesis para obtener el título profesional de licenciado tecnólogo médico en laboratorio clínico y anatomía patológica] Universidad Nacional de Jaén; 2024. Disponible en: <https://repositorio.unj.edu.pe/items/e23a049d-3fe8-4d67-b6ae-4640f1d0deff>
24. Narvaez K, Quiroz M. Efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico del *Rosmarinus Officinalis* L. (Romero) frente *Salmonella* entérica ATCC 51741 y *Escherichia Coli* ATCC 25922 [Internet]. [Tesis para optar el título profesional de químico farmacéutico] Universidad María Auxiliadora; 2024. Disponible en: <https://repositorio.uma.edu.pe/handle/20.500.12970/1966>
25. Paima W, Rios A. Tamizaje fitoquímico y actividad antibacteriana de los extractos de *Dryopteris filix-mas* frente a *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium* y *Klebsiella pneumoniae* [Internet]. [Tesis para optar el título profesional de químico farmacéutico] Universidad Nacional de la Amazonía Peruana; 2025. Disponible en: <https://repositorio.unapiquitos.edu.pe/items/e76e9edb-49fa-4e37-bc39-3e4e4f8f6e5f>
26. Mabry M, Hissong S, Gallagher E, McAlvay A. The Evolutionary History of Wild, Domesticated, and Feral *Brassica oleracea* (Brassicaceae). *Mol Biol Evol* [Internet]. 2021;38(10):4419–4434. Disponible en: <https://doi.org/10.1093/molbev/msab183>
27. Yirmibes B, Ulger N. Botanical Characteristics, Nutritional Value, and Economic Importance of the *Brassica* Genus. *Jourjnal Agric food Ecol* [Internet]. 2024;2(1):9-14. Disponible en: <https://doi.org/10.5281/zenodo.13627029>
28. Ray L, Alam M, Junaid M, Ferdousy S. *Brassica oleracea* var. *capitata* f. *alba*: A Review on its Botany, Traditional uses, Phytochemistry and Pharmacological Activities. *Mini Rev Med Chem* [Internet]. 2021;21(16):1-8. Disponible en: <https://doi.org/10.2174/1389557521666210111150036>
29. Li H, Liu H, Guo H, He X. Nutritional values, beneficial effects, and food

- applications of broccoli (*Brassica oleracea* var. *italica* Plenck). *Trends Food Sci Technol* [Internet]. 2022;119(1):288-308. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.12.015>
30. Łukaszyk A, Kwiecień I, Kanik A, Blicharska E. Nutritional, Therapeutic, and Functional Food Perspectives of Kale (*Brassica oleracea* var. *acephala*): An Integrative Review. *Molecules* [Internet]. 2025;30(21):1-10. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/molecules30214214>
 31. Kamboj A, Sharma S, Singh V, Sinha A. Phytochemical and therapeutic potential of broccoli (*Brassica oleracea*): A review. *Pharma Innov* [Internet]. 2023;12(6):633-8. Disponible en: https://www.researchgate.net/profile/Vipul-Singh-33/publication/371280098_Phytochemical_and_therapeutic_potential_of_broccoli_Brassica_oleracea_A_review/links/647c396bb3dfd73b77616b17/Phytochemical-and-therapeutic-potential-of-broccoli-Brassica-oleracea-A-review.pdf
 32. Murugesan K, Mulugeta K, Hailu E, Tamene W. Insights for integrative medicinal potentials of Ethiopian Kale (*Brassica carinata*): Investigation of antibacterial, antioxidant potential and phytochemicals composition of its leaves. *Chinese Herb Med* [Internet]. 2021;13(2):250-4. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.chmed.2020.09.003>
 33. Talebi A, Karhib M, Taki M, Abood S. Chemical Analysis, Antioxidant, and Antibacterial Potential of Aqueous Extract of Broccoli (*Brassica oleracea*) Using GC-ms. *Arch Razi Inst* [Internet]. 2023;78(2):593–599. Disponible en: <https://doi.org/10.22092/ari.2022.359860.2488>
 34. Tileuberdi N, Turgumbayeva A, Yeskaliyeva B, Sarsenova L, Issayeva R. Extraction, Isolation of Bioactive Compounds and Therapeutic Potential of Rapeseed (*Brassica napus* L.). *Molecules* [Internet]. 2022;27(24):1-10. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/molecules27248824>
 35. Thakur S, Choudhary K, Kumar R, Kumar S. Ecofriendly Management of *Pieris brassicae* in *Brassica oleracea*: A Review. *Biol Bull Rev* [Internet]. 2023;13(1):1-10. Disponible en: <https://doi.org/10.1134/S2079086423060117>
 36. Siomos A, Koularmanis K, Tsouvaltzis P. The Impacts of the Emerging Climate

- Change on Broccoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica* Plenck.) Crop. Horticulturae [Internet]. 2022;8(11):1-10. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/horticulturae8111032>
37. Mittal R, Rasane P, Gunjal M, Singh J. Brassica oleracea as a functional crop: phytochemical potential and sustainable applications. J Sci Food Agric [Internet]. 2025;105(7):3525-38. Disponible en: <https://doi.org/10.1002/jsfa.14193>
 38. Ortega E, Antunes M, Velázquez D. Improving the Health-Benefits of Kales (*Brassica oleracea* L. var. *acephala* DC) through the Application of Controlled Abiotic Stresses: A Review. Plants [Internet]. 2021;10(12):1-8. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/plants10122629>
 39. Liu B, Perepelov A, Guo X, Cao H. Structure and genetics of *Escherichia coli* O antigens. Microbiol Rev [Internet]. 2020;44(6):1-10. Disponible en: <https://doi.org/10.1093/femsre/fuz028>
 40. Han J, Aljahdali N, Zhao S, Tang H. Infection biology of *Salmonella enterica*. EcoSal Plus [Internet]. 2024;1(1):1-10. Disponible en: <https://doi.org/10.1128/ecosalplus.esp-0001-2023%0A>
 41. Tang C, Hu H, Chen G, Li Z. Disinfectant resistance in bacteria: Mechanisms, spread, and resolution strategies. Environ Res [Internet]. 2021;195(1):1-20. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.envres.2021.110897>
 42. Winterton N. The green solvent: a critical perspective. Clean Technol Environ Policy [Internet]. 2021;23(1):2499–2522. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s10098-021-02188-8%0A%0A>
 43. Abdelhalim M, Elsayed E, Shams K, Eldahsha O. GC/Ms analysis and antimicrobial activities of different extracts of Egyptian sprouting Broccoli leaves (*Brassica oleracea* L. var. *italica*) family Brassicaceae. Arch Pharm Sci Ain Shams Univ [Internet]. 2023;7(1):31-40. Disponible en: https://journals.ekb.eg/article_295163.html
 44. Mahesh P, Kolape J, Sultana H, Neelakanta G. McFarland Standards-Based Spectrophotometry Method for Calculating Approximate Multiplicity of Infection for an Obligate Intracellular Bacterium *Anaplasma phagocytophilum*. Microorganisms [Internet]. 2025;13(3):1-662. Disponible en:

- <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC11945594/>
45. Veiga M, Costa E, Silva S, Pintado M. Impact of plant extracts upon human health: A review. *Crit Rev Food Sci Nutr* [Internet]. 2020;60(5):1-10. Disponible en: <https://doi.org/10.1080/10408398.2018.1540969>
 46. Pandya Y, Bakshi M, Sharma A. Agar-agar extraction, structural properties and applications: A review. *Pharma Innov J* [Internet]. 2022;11(6):1151-7. Disponible en: https://www.researchgate.net/profile/Yash-Pandya-5/publication/361254986_Agar-agar_extraction_structural_properties_and_applications_A_review/links/62a6fc05416ec50bdb21cf84/Agar-agar-extraction-structural-properties-and-applications-A-review.pdf
 47. Zapata I. In vitro [Internet]. 2021. 1-100 p. Disponible en: <https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=-NZAEEAAQBAJ&oi=fnd&pg=PT11&dq=In+vitro&ots=R7Mby9kQFG&sig=URh5HyT6fREcASomLSYXAi6o6ls#v=onepage&q=In+vitro&f=false>
 48. Hernandez R, Fernandez C, Baptista L. Metodología de la investigación [Internet]. 6.^a ed. McGRAW-HILL / Interamericana Editores (Ed.), editor. México; 2010. 1-632 p. Disponible en: <https://www.esup.edu.pe/wp-content/uploads/2020/12/2.Hernandez,Fernandez+y+Baptista-metodología+Investigacion+Cientifica+6ta+ed.pdf>
 49. Cegarra J. Metodología de la investigación científica y tecnológica [Internet]. 1.^a ed. Madrid: Diaz de Santos; 2004. 372 p. Disponible en: [https://gc.scalahed.com/recursos/files/r161r/w24111w/Metodologia de la Investigacion Cientifica y Tecnologica - Jose Cegarra Sanchez.pdf](https://gc.scalahed.com/recursos/files/r161r/w24111w/Metodologia+de+la+Investigacion+Cientifica+y+Tecnologica+-+Jose+Cegarra+Sanchez.pdf)
 50. Gallardo E. Metodologia de la Investigacion [Internet]. 1 ed. Huancayo: Universidad Continental; 2017. 1-96 p. Disponible en: https://repositorio.continental.edu.pe/bitstream/20.500.12394/4278/1/DO_UC_EG_MAI_UC0584_2018.pdf
 51. Herdández R, Mendoza C. Metodología de la investigación. Las rutas cuantitativa, cualitativa y mixta [Internet]. 1.^a ed. Mc Graw Hill Education, editor. México; 2018. 1-714 p. Disponible en: <https://doi.org/10.22201/fesc.20072236e.2019.10.18.6>

52. Reyes E. Metodología de la investigación Científica [Internet]. 1.^a ed. Estados Unidos de América: Conneaut Lake, PA; 2022. 1-166 p. Disponible en: <https://books.google.com.pe/books?id=SmdxEAAAQBAJ&printsec=frontcover&hl=es#v=onepage&q&f=false>
53. Bruneton J. Farmacognosia fitoquímica, plantas medicinales Jean Bruneton [Internet]. 2.^a ed. Zaragoza: Acribia; 2001. 1-1099 p. Disponible en: <https://biblioteca.unapiquitos.edu.pe/bib/14551>
54. Lock O. Investigación fitoquímica: Métodos de estudios de productos naturales [Internet]. 3 ed. Lima: Pontificia Universidad Católica del Perú; 2016. 1-287 p. Disponible en: <https://isbn.bnpp.gob.pe/catalogo.php?mode=detalle&nt=83210>
55. Instituto Nacional de Salud. Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión [Internet]. 1.^a ed. Lima: Ministerio de salud; 2002. 1-67 p. Disponible en: https://bvs.ins.gob.pe/insprint/SALUD_PUBLICA/NOR_TEC/30
56. Oficina ejecutiva de investigación. Manual de procedimientos de ensayos clínicos [Internet]. N° 279-2017-J-OPE/INS Perú: Ministerio de salud; 2017 p. 1-118. Disponible en: <https://www.gob.pe/institucion/ins/normas-legales/1051359-279-2017-j-ope-ins>
57. Okoduwa SIR, Umar IA, James DB, Inuwa HM, Habila JD. Evaluation of extraction protocols for anti-diabetic phytochemical substances from medicinal plants. World J Diabetes [Internet]. 2016;7(20):605-614. Disponible en: <https://doi.org/10.4239/wjd.v7.i20.605>

VII. ANEXOS

Anexo 1. Matriz de consistencia

Formulación del Problema	Objetivos	Hipótesis	Variables	Diseño metodológico
Problema general ¿Cuál es la actividad antibacteriana del extracto etanólico de hojas de <i>Brassica oleracea</i> (col morada) sobre <i>Escherichia coli</i> y <i>Salmonella enterica</i>? Problema específico 1 ¿Qué metabolitos secundarios están presentes en el extracto etanólico de hojas de <i>Brassica oleracea</i> (col morada), según el análisis fitoquímico?	Objetivo general Determinar la actividad antibacteriana del extracto etanólico de hojas de <i>Brassica oleracea</i> (col morada) sobre <i>Escherichia coli</i> y <i>Salmonella enterica</i>. Objetivo específico 1 Identificar los metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de hojas de <i>Brassica oleracea</i> (col morada), según el análisis fitoquímico.	Hipótesis general H1: El extracto etanólico de hojas de <i>Brassica oleracea</i> (col morada) presenta actividad antibacteriana sobre <i>Escherichia coli</i> y <i>Salmonella enterica</i>. H0: El extracto etanólico de hojas de <i>Brassica oleracea</i> (col morada) no presenta actividad antibacteriana sobre <i>Escherichia coli</i> ni <i>Salmonella enterica</i>. Hipótesis específica 1 H2: El extracto etanólico de hojas de <i>Brassica oleracea</i> (col morada) contiene metabolitos secundarios con potencial actividad antibacteriana.	Variable independiente Tratamiento aplicado. Niveles experimentales Extracto etanólico al 25 %, 50 % y 75 %; ciprofloxacino de 5 µg como control positivo; dimetilsulfóxido (DMSO) como control negativo. Caracterización complementaria Prueba de solubilidad y perfil fitoquímico cualitativo del extracto.	Método Hipotético-deductivo. Enfoque Cuantitativo. Tipo Aplicado. Diseño Experimental <i>in vitro</i>. Población Cinco kilogramos de <i>Brassica oleracea</i> y cepas de <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 y <i>Salmonella enterica</i> ATCC 51741.

Formulación del Problema	Objetivos	Hipótesis	Variables	Diseño metodológico
Problema específico 2 ¿Cuál es la actividad antibacteriana del extracto etanólico de hojas de <i>Brassica oleracea</i> (col morada) sobre <i>Escherichia coli</i> a concentraciones de 25 %, 50 % y 75 %? Problema específico 3 ¿Cuál es la actividad antibacteriana del extracto etanólico de hojas de <i>Brassica oleracea</i> (col morada) sobre <i>Salmonella enterica</i> a concentraciones de 25 %, 50 % y 75 %? Problema específico 4 ¿Cuál es la actividad antibacteriana del extracto etanólico de hojas de <i>Brassica oleracea</i> (col morada), en comparación con el ciprofloxacino de 5 µg, sobre <i>Escherichia coli</i> y <i>Salmonella enterica</i>?	Objetivo específico 2 Determinar la actividad antibacteriana del extracto etanólico de hojas de <i>Brassica oleracea</i> (col morada) sobre <i>Escherichia coli</i> a concentraciones de 25 %, 50 % y 75 %. Objetivo específico 3 Determinar la actividad antibacteriana del extracto etanólico de hojas de <i>Brassica oleracea</i> (col morada) sobre <i>Salmonella enterica</i> a concentraciones de 25 %, 50 % y 75 %. Objetivo específico 4 Comparar la actividad antibacteriana del extracto etanólico de hojas de <i>Brassica oleracea</i> (col morada) con la del ciprofloxacino de 5 µg sobre <i>Escherichia coli</i> y <i>Salmonella enterica</i>.	Hipótesis específicas H3: El extracto etanólico de hojas de <i>Brassica oleracea</i> (col morada) presenta actividad antibacteriana, a concentraciones de 25 %, 50 % y 75 %, sobre <i>Escherichia coli</i>. H4: El extracto etanólico de hojas de <i>Brassica oleracea</i> (col morada) presenta actividad antibacteriana, a concentraciones de 25 %, 50 % y 75 %, sobre <i>Salmonella enterica</i>. H5: La actividad antibacteriana del extracto etanólico de hojas de <i>Brassica oleracea</i> (col morada) es mayor que la del ciprofloxacino de 5 µg sobre <i>Escherichia coli</i> y <i>Salmonella enterica</i>.	Variable dependiente Actividad antibacteriana <i>in vitro</i>. Dimensiones Respuesta frente a <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 y respuesta frente a <i>Salmonella enterica</i> ATCC 51741. Indicador Diámetro del halo de inhibición, expresado en milímetros. Escala Razón.	Muestra Un kilogramo de hojas de <i>Brassica oleracea</i> y 20 placas Petri, distribuidas en 10 por cada cepa bacteriana. Repeticiones Diez mediciones por tratamiento y cepa; 100 mediciones en total. Técnica e instrumento Observación mediante guía de registro. Procedimiento microbiológico Difusión en agar Mueller-Hinton por pozos de 6 mm. Análisis Estadísticos descriptivos, Shapiro-Wilk, Levene, ANOVA

Formulación del Problema	Objetivos	Hipótesis	Variables	Diseño metodológico
				de un factor y T3 de Dunnett, con $\alpha = 0,05$.

Anexo 2. Instrumentos

Tabla 14. Examen microbiológico

N°	Frente a <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922				
	DMSO	Ciprofloxacino 5 µg	25 %	50 %	75 %
1					
2					
3					
4					
5					
6					
7					
8					
9					
10					
N°	Frente a <i>Salmonella enterica</i> ATCC 51741				
	DMSO	Ciprofloxacino 5 µg	25 %	50 %	75 %
1					
2					
3					
4					
5					
6					
7					
8					
9					
10					

Tabla 15. Examen fitoquímico en extracto etanólico

N°	Metabolitos secundarios	Prueba cualitativa	Resultado obtenido	Valoración
1	Antraquinonas	Borntrager		
2	Compuestos fenólicos	Cloruro férrico		
3	Terpenos y esteroides	Liebermann–Burchard		

Nº	Metabolitos secundarios	Prueba cualitativa	Resultado obtenido	Valoración
4	Alcaloides	Dragendorff		
5	Alcaloides	Mayer		
6	Alcaloides	Wagner		
7	Lactonas α,β -insaturadas	Baljet		
8	Taninos	Gelatina		
9	Taninos	Gelatina-sal		
10	Antocianinas	NaOH al 10 %		
11	Saponinas	Prueba de espuma (agua destilada)		
12	Flavonoides	Shinoda		

Leyenda:

(-) Ausente

(+) Presencia leve

(++) Presencia moderada

(+++) Presencia abundante

Anexo 3. Informe de análisis de laboratorio

«Año de la Esperanza y el Fortalecimiento de la Democracia»

Informe de Resultados

Solicitado por: PACHECO HUARHUACHI DAYAN ISABEL
RODRÍGUEZ PALPAN RUTH ESTRELLITA
Muestra: Extracto Col morada
Fecha de ensayo: 15-06-26

Microorganismo	Diámetros de inhibición en mm				
	75%	50%	25%	Ciprofloxacino 5 ug	DMSO
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	6	6	6	37.43	6
	6	6	6	36.86	6
	6	6	6	37.68	6
	6	6	6	37.45	6
	6	6	6	37.54	6
	6	6	6	37.52	6
	6	6	6	36.98	6
	6	6	6	37.48	6
	6	6	6	37.57	6
	6	6	6	37.39	6
Microorganismo	75%	50%	25%	Ciprofloxacino 5 ug	DMSO
<i>Salmonella</i> entérica ATCC 51741	10.01	8.11	6	32.78	6
	9.78	8.17	6	33.10	6
	9.94	8.11	6	33.16	6
	10.23	8.06	6	32.98	6
	10.17	8.22	6	33.25	6
	10.11	8.09	6	33.33	6
	9.85	8.27	6	33.12	6
	10.08	8.19	6	33.23	6
	10.15	8.04	6	32.75	6
	10.04	8.15	6	32.95	6

*Tamaño de pozo: 6mm de diámetro

*Concentración del inoculo: 1.5×10^8 UFC/mL


Lic. T.M. Walter A. Siri Rodríguez
CTMP. 10808



CERTIFICATE OF ANALYSIS

PRODUCT CM0337B
MUELLER HINTON AGAR 500g

LOT NUMBER 3681362

EXPIRY DATE 2028.06.05

DATE OF MANUFACTURE 2023.06.07

Delivery/Customer information

Date Printed

2023.06.30

Delivery No.

Customer

Customer Order Number

Physical Characteristics	Results	Specification
Appearance	Straw powder	Straw powder
Colour on reconstitution	Straw 2-3	Straw 2-3
pH (25°C)	7.3	7.2 - 7.4
Clarity	Clear	Clear

Microbiological Performance

Antibiotic susceptibility tests are performed in accordance with, and meet the acceptance limits of, the current ISO/TS 16782. Performance is assessed using EUCAST methodology.

Staphylococcus aureus ATCC®25923 WDCM00034

Incubation at 35 ± 1°C for 16-20 hours in ambient air

	Zone Size (mm)	Limits (mm)
Erythromycin E15	29	22 - 30
Tetracycline TE30	27	24 - 30
Ciprofloxacin CIP5	26	22 - 30
Amoxicillin-clavulanate AMC30	34	28 - 36
Ampicillin-sulbactam SAM20	35	29 - 37
Linezolid LZD30	25	25 - 32
Cefoxitin FOX30	29	23 - 29
Gentamicin CN10	26	19 - 27
Penicillin P10	35	26 - 37

Staphylococcus aureus ATCC®29213 WDCM00131

Incubation at 35 ± 1°C for 16-20 hours in ambient air

Penicillin P1	15	12 - 18
Cefoxitin FOX30	28	24 - 30
Ciprofloxacin CIP5	22	21 - 27
Erythromycin E15	25	23 - 29
Gentamicin CN10	22	19 - 25
Linezolid LZD10	22	21 - 27
Tetracycline TE30	26	23 - 31



Tested by the Quality Control Laboratory
OXOID LIMITED
Wade Road, Basingstoke, Hampshire RG24 8PW, England
oxoid@thermofisher.com www.oxoid.com

FDA Reg No. 8010006

Certificate No. FM 09914

**CERTIFICATE OF ANALYSIS**

PRODUCT CM0337B
LOT NUMBER 3681362
MUELLER HINTON AGAR 500g

Staphylococcus aureus ATCC®43300 WDCM00211
 Incubation at 35 ± 1°C for 24 hours in ambient air

	Zone Size (mm)	Limits (mm)
Cefoxitin FOX30	11	<21

Staphylococcus aureus NCTC12493 WDCM00212
 Incubation at 35 ± 1°C for 24 hours in ambient air

Cefoxitin FOX30	20	14 - 20
-----------------	----	---------

Escherichia coli ATCC®25922 WDCM00013
 Incubation at 35 ± 1°C for 16-20 hours in ambient air

Ampicillin AMP10	16	15 - 22
Chloramphenicol C30	24	21 - 27
Gentamicin CN10	20	19 - 26
Trimethoprim-sulfamethoxazole SXT25	29	23 - 29
Amoxicillin-clavulanate AMC30	20	18 - 24
Ciprofloxacin CIP5	33	30 - 40
Sulfisoxazole SF300	21	15 - 23
Tetracycline TE30	22	18 - 25
Cefotaxime CTX5	28	25 - 31
Tigecycline TGC15	22	20 - 27

Escherichia coli ATCC®35218
 Incubation at 35 ± 1°C for 16-20 hours in ambient air

Amoxicillin-clavulanate AMC30	20	17 - 22
-------------------------------	----	---------

Pseudomonas aeruginosa ATCC®27853 WDCM00025
 Incubation at 35 ± 1°C for 16-20 hours in ambient air

Gentamicin CN10	19	16 - 21
Imipenem IPM10	22	20 - 28
Aztreonam ATM30	24	23 - 29
Ciprofloxacin CIP5	25	25 - 33
Tobramycin TOB10	23	19 - 25
Ceftazidime CAZ10	24	21 - 27
Piperacillin-tazobactam TZP36	25	23 - 29

Enterococcus faecalis ATCC®33186 WDCM00210
 Incubation at 35 ± 1°C for 16-20 hours in ambient air

Trimethoprim-sulfamethoxazole SXT25	25	20 -
-------------------------------------	----	------

Enterococcus faecalis ATCC®29212 WDCM00087
 Incubation at 35 ± 1°C for 16-20 hours in ambient air

Ampicillin AMP2	18	15 - 21
Imipenem IPM10	26	24 - 30
Linezolid LZD10	22	19 - 25
Nitrofurantoin F100	22	18 - 24



Tested by the Quality Control Laboratory
 OXOID LIMITED

Wade Road, Basingstoke, Hampshire RG24 8PW, England
 oxoid@thermofisher.com www.oxoid.com



CERTIFICATE OF ANALYSIS

PRODUCT CM0337B
MUELLER HINTON AGAR 500g
LOT NUMBER 3681362

Trimethoprim W5	30	24 - 32
Trimethoprim-sulfamethoxazole SXT25	31	26 - 34
Vancomycin VA5	13	10 - 16

Streptococcus pneumoniae ATCC®49619
Enriched with 5% v/v horse blood and 20mg/L B-NAD
Incubation at 35 ± 1°C for 18-20 hours in 5% CO₂

	Zone Size (mm)	Limits (mm)
Vancomycin VA5	21	<23

Haemophilus influenzae ATCC®49247
Enriched with 5% v/v horse blood and 20mg/L B-NAD
Incubation at 35 ± 1°C for 18-20 hours in 5% CO₂

Ampicillin AMP2	10	6 - 12
-----------------	----	--------

Haemophilus influenzae ATCC®49766
Enriched with 5% v/v horse blood and 20mg/L B-NAD
Incubation at 35 ± 1°C for 18-20 hours in 5% CO₂

Cefixime CFM5	31	29 - 35
---------------	----	---------

Control Medium: Mueller-Hinton Agar

Refer to product specification for full details.

The information given is believed to be correct, all results reported in this certificate relate only to the product and lot stated in this certificate of analysis. However, both the information and the product are offered without warranty for any application other than that specified in the current Oxoid Manual. This certificate shall not be reproduced except in full, without written approval of the Quality Control Laboratory, Oxoid Limited, Basingstoke. The results reported were obtained at the time of release.
Lot Accepted: 2023.06.16

Carissa Courtney
Director Quality, EMEA

ATCC is a registered trade mark of the American Type Culture Collection.
NCTC and National Collection of Type Cultures are registered trade marks of the Health Protection Agency.



Tested by the Quality Control Laboratory
OXOID LIMITED
Wade Road, Basingstoke, Hampshire RG24 8PW, England
oxoid@thermofisher.com www.oxoid.com

Certificate No. FM 05014

FDA Reg No. 8010066

Anexo 5. Certificado de análisis de Cepa *Escherichia coli*



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

SPECIFICATIONS: Product Name: <i>Escherichia coli</i> Catalog Number: 0335 Lot Number: 335-592** Reference Number: ATCC® 25922™** Passage from Reference: 3 (7) Mean Assay Value (MAV): 50 CFU per 0.1 ml Expiration Date: 2026/07/31	RELEASE INFORMATION: Quality Control Technologist: Michelle M Schwartz Release Date: 2025/02/20
--	--

Performance	
Macroscopic Features: 2 colony types, both are gray & beta hemolytic: one is circular to irregular, convex, slightly erose edge & smooth; other is larger, irregular, low convex, erose edge & rough Microscopic Features: N/A	Medium: SBAP Method: N/A
ID System: MALDI-TOF (1)	
See attached ID System results document.	
Amanda Kuperus Director of Quality Control AUTHORIZED SIGNATURE	
**Disclaimer: The last digit(s) of the lot number appearing on the product label and packing slip are merely a packaging event number. The lot number displayed on this certificate is the actual base lot number. <u>Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and hazard/safety information.</u> Individual products are traceable to a recognized culture collection. (1) These tests are accredited to ISO/IEC 17025. TESTING CERT #2655.01 ATCC Licensed Derivative (*) The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC. Microbiologics, Inc. is licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC® cultures. REFERENCE MATERIAL PRODUCER CERT #2655.02 (7) The Mean Assay Value (MAV) stated above may deviate from the end-user's MAV based on variables inherent to each laboratory environment, such as methods, media type, equipment, pipettes, and individual technician technique.	

Bruker Daltonik MALDI Biotyper Classification Results



Meaning of Score Values

Range	Interpretation	Symbols	Color
2.00 – 3.00	High-confidence identification	(+++)	Green
1.70 – 1.99	Low-confidence identification	(+)	Yellow
0.00 – 1.69	No Organism Identification Possible	(-)	Red

Meaning of Consistency Categories (A - C)

Category	Interpretation
(A)	High consistency: The best match is a high-confidence identification. The second-best match is (1) a high-confidence identification in which the species is identical to the best match, (2) a low-confidence identification in which the species or genus is identical to the best match, or (3) a non-identification.
(B)	Low consistency: The requirements for high consistency are not met. The best match is a high- or low-confidence identification. The second-best match is (1) a high- or low-confidence identification in which genus is identical to the best match or (2) a non-identification.
(C)	No consistency: The requirements for high or low consistency are not met.

Run Creation Date/Time: 2/18/2025 2:22 PM CMC

Applied MSP Library(ies): BDAL, Mycobacteria Library (bead method), Filamentous Fungi Library

Sample Name	Sample ID	Organism (best match)	Score Value
D6 (+++) (A)	335-592	Escherichia coli	2.35

Comments:

closely related to Shigella / Escherichia fergusonii and not definitely distinguishable at the moment.

Anexo 6. Certificado de análisis de Cepa *Salmonella enterica*



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

SPECIFICATIONS: Product Name: Salmonella enterica subsp. enterica Catalog Number: 0501 Lot Number: 501-24** Reference Number: ATCC® 51741™* Passage from Reference: 2 Expiration Date: 2027/01/31	RELEASE INFORMATION: Quality Control Technologist: Jacob A Lohman Release Date: 2025/02/04
--	---

Performance	
Macroscopic Features: Large, raised, entire to erose edge, gray, rough.	Medium: SBAP
Microscopic Features: Gram negative straight rod with rounded ends.	Method: Gram Stain (1)
ID System: MALDI-TOF (1)	
See attached ID System results document.	
Other Features/ Challenges: Results	
(1) Oxidase (Kovacs): negative Hektoen Enteric Agar: good growth, green colonies	 Amanda Kuperus Director of Quality Control AUTHORIZED SIGNATURE
**Disclaimer: The last digit(s) of the lot number appearing on the product label and packing slip are merely a packaging event number. The lot number displayed on this certificate is the actual base lot number. <u>Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and hazard/safety information.</u> Individual products are traceable to a recognized culture collection. (1) These tests are accredited to ISO/IEC 17025.  TESTING CERT #2655.01  REFERENCE MATERIAL PRODUCER CERT #2655.02 (*) The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC. Microbiologics, Inc. is licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC® cultures.	

Bruker Daltonik MALDI Biotyper Classification Results



Meaning of Score Values

Range	Interpretation	Symbols	Color
2.00 – 3.00	High-confidence identification	(+++)	Green
1.70 – 1.99	Low-confidence identification	(+)	Yellow
0.00 – 1.69	No Organism Identification Possible	(-)	Red

Meaning of Consistency Categories (A - C)

Category	Interpretation
(A)	High consistency: The best match is a high-confidence identification. The second-best match is (1) a high-confidence identification in which the species is identical to the best match, (2) a low-confidence identification in which the species or genus is identical to the best match, or (3) a non-identification.
(B)	Low consistency: The requirements for high consistency are not met. The best match is a high- or low-confidence identification. The second-best match is (1) a high- or low-confidence identification in which genus is identical to the best match or (2) a non-identification.
(C)	No consistency: The requirements for high or low consistency are not met.

Run Creation Date/Time: 1/30/2025 3:50 PM CMC

Applied MSP Library(ies): BDAL, Mycobacteria Library (bead method), Filamentous Fungi Library

Sample Name	Sample ID	Organism (best match)	Score Value
G4 (+++) (A)	501-24	Salmonella sp	2.10

Comments:

Salmonella can only be identified on genus level.

Anexo 7. Evidencias fotográficas

Muestra: Hojas de *Brassica oleracea* (col morada)



1. Tratamiento y extracción de la droga vegetal

1.1 Tratamiento de la droga vegetal

a. Selección y limpieza



b. Lavado



Trozado y lavado de hojas

c. Secado



Hojas dentro de estufa a 40 °C

d. Molienda



Peso obtenido luego de la molienda: 164,34 g

1.2 Extracción

a. Maceración



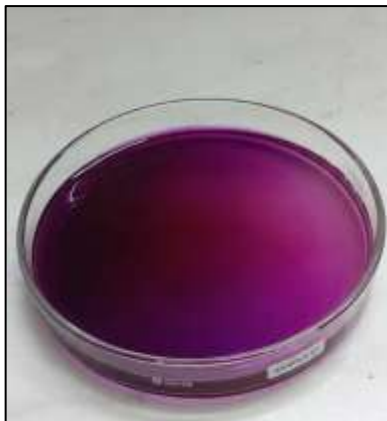
Proceso de maceración

b. Filtrado



Proceso de filtración

c. Obtención del extracto seco

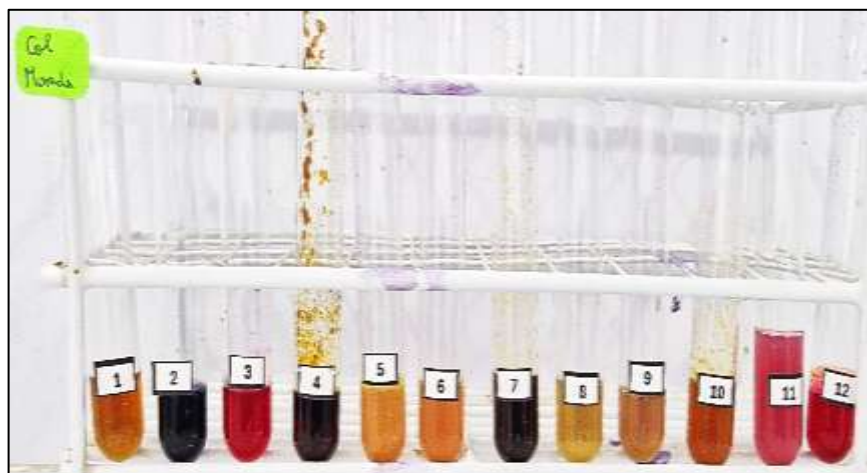


Obtención de extracto seco

SOLUBILIDAD

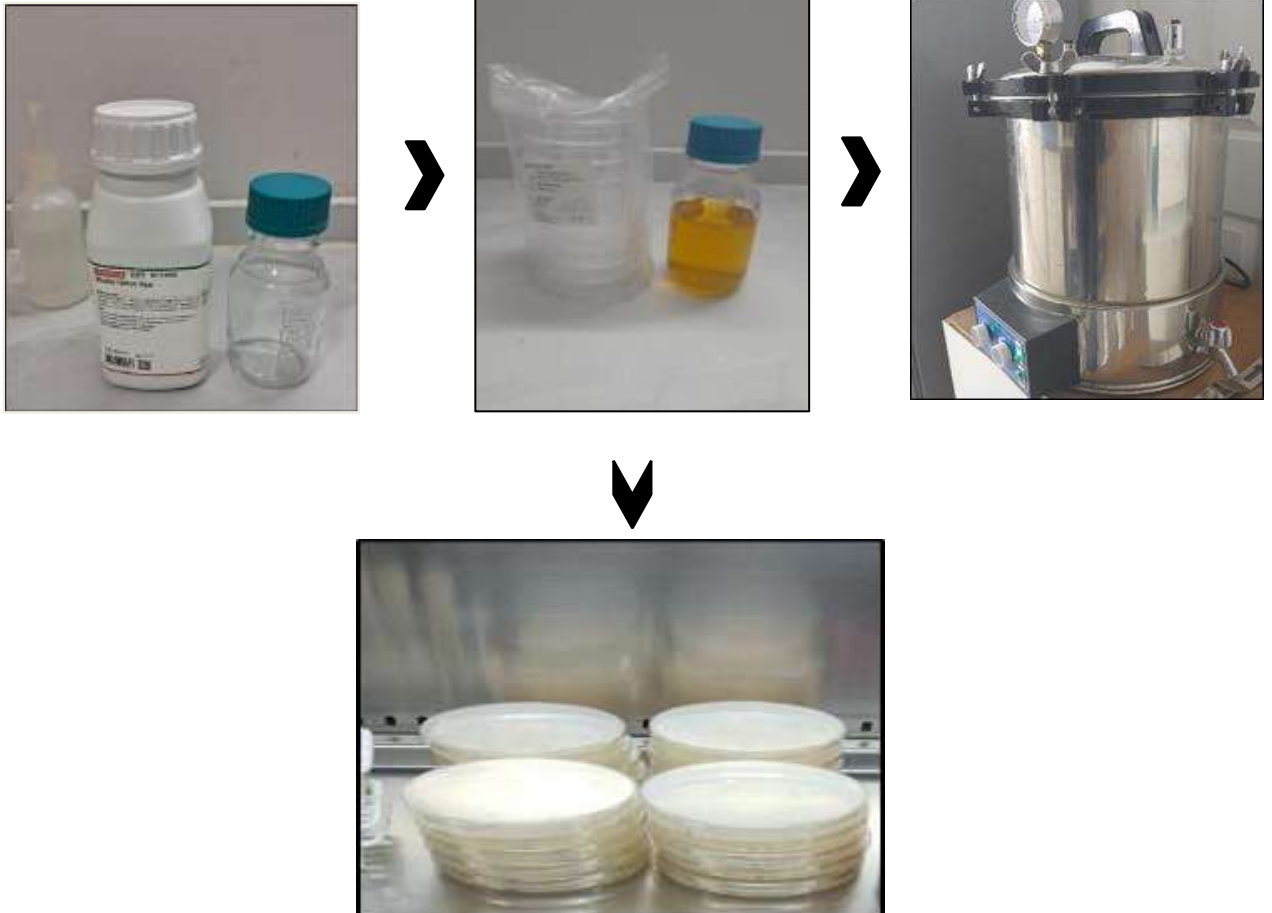


PROCEDIMIENTO DE MARCHA FITOQUÍMICA

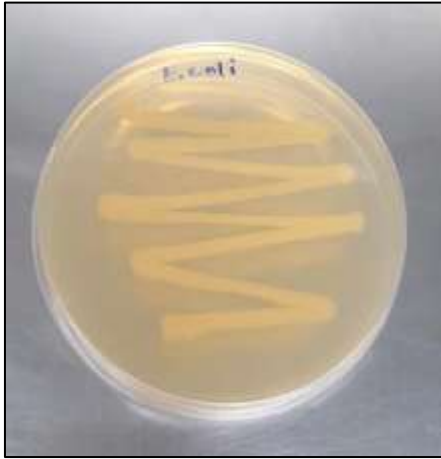


INFORME DEL ENSAYO MICROBIOLÓGICO

1. Preparación del medio de cultivo



2. Método de preparación del inóculo



Escherichia coli

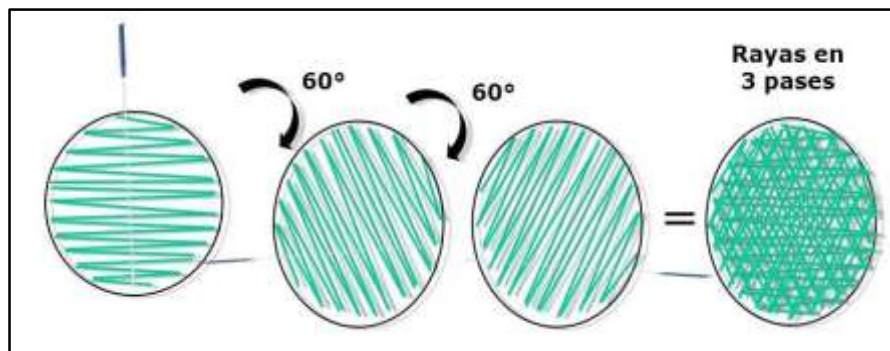


Salmonella enterica

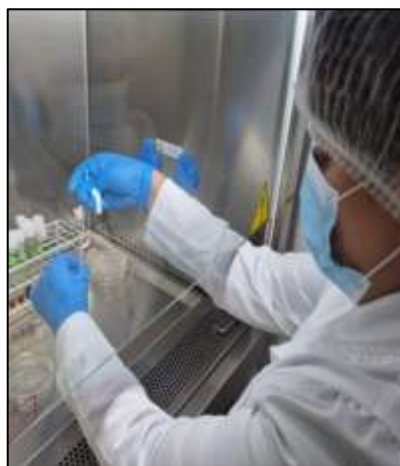


Comparación con el estándar 0,5 de McFarland

3. Inoculación de placas



Rotulado de placas

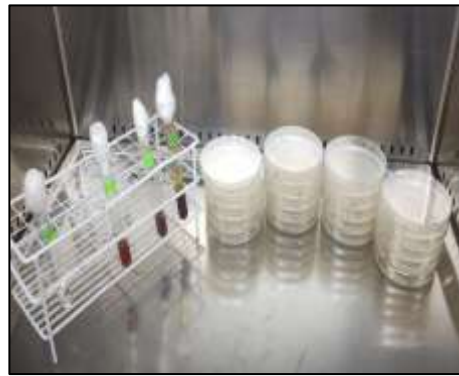


Siembra de placas



Realización de pozos en agar con ayuda de un sacabocados

4. Preparación de sustancias experimentales



5. Incubación



Incubación de las placas inoculadas

6. Lectura de resultados



Escherichia coli



Salmonella enterica

Anexo 8. Certificación de la clasificación taxonómica de *Brassica oleracea* (col morada)

JOSÉ R. CAMPOS DE LA CRUZ
CONSULTOR BOTÁNICO
C. B. P. 3796
CEL: 940 541 762
Email: jocamde@gmail.com



CERTIFICACIÓN DE IDENTIFICACIÓN BOTÁNICA

JOSÉ RICARDO CAMPOS DE LA CRUZ. BIÓLOGO COLEGIADO. CBP 3796 – INSCRITO EN EL REGISTRO DE PROFESIONALES QUE REALIZAN CERTIFICACIONES DE IDENTIFICACIÓN TAXONÓMICA DE ESPECÍMENES Y PRODUCTOS DE FLORA – RESOLUCIÓN DIRECTORAL N.º 0311-2013- MINAGRI-DGFFS-DGEFFS.

CERTIFICA:

Que, la Bachiller RODRÍGUEZ PALPAN, Ruth Estrellita y la Bachiller PACHECO HUARHUACHI, Dayan Isabel, tesis de la Universidad Norbert Wiener, Facultad de Ciencias de la salud, Programa académico de Medicina, con fines de investigación para desarrollar su tesis titulada: ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA IN VITRO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE HOJAS DE *Brassica oleracea* (COL MORADA) SOBRE *Escherichia coli* Y *Salmonella enterica*. Han solicitado la identificación y certificación botánica de una planta procedente del distrito y provincia de Tarma, departamento de Junín, donde es conocida con el nombre común de “col morada”, la muestra ha sido identificada con el nombre científico: *Brassica oleracea* var. *capitata* L. Se certifica conforme a la base de W³Tropicos del Missouri Botanical Garden, adaptando el moderno sistema de clasificación filogenética de las angiospermas (APG), publicado en 1998 y la actualización realizada en 2016 por APG IV. El sistema APG evita el uso de la nomenclatura taxonómica clásica por arriba de orden. Chase Mark W. & James L. Reveal, en su sistema clasificación filogenética de plantas terrestres para acompañar al APG III. (2009), en sentido amplio consideran a todas las plantas verdes en la Clase Equisetopsida. Teniendo en cuenta los datos de la base de W³Tropicos, APG III, APG IV y WFO, *Brassica oleracea* var. *capitata* presenta las categorías taxonómicas y clados siguientes:

Reino: Plantae
División: Angiospermae
Clase: Equisetopsida
Subclase: Magnoliidae
Superorden: Rosanae
Orden: Brassicales
Familia: Brassicaceae
Género: *Brassica*
Especie: *Brassica oleracea* var. *capitata* L.

Nombre vulgar: “Col morada”

Se expide la presente certificación botánica para fines de investigación.

Lima, 01 de junio de 2026


José R. Campos De La Cruz
BIÓLOGO
C.B.P. 3796

JR. SÁNCHEZ SILVA 156 – PISO 2-URB. SANTA LUZMILA -LIMA 07 -LIMA

Anexo 9 Aprobación del comité de ética



COMITÉ INSTITUCIONAL DE ÉTICA E INTEGRIDAD CIENTÍFICA

CONSTANCIA DE EXONERACIÓN DE REVISIÓN ÉTICA DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

Lima, 19 de mayo del 2026.

Autor o Autores:

RODRÍGUEZ PALPAN RUTH ESTRELLITA
PACHECO HUARHUACHI DAYAN ISABEL

Exp. N°: 1389-2026

De mi consideración:

Es grato dirigirme a Usted para informar que el Comité Institucional de Ética e Integridad Científica (CIEIC) de la Universidad Privada Norbert Wiener, tras la revisión del expediente presentado, **DETERMINA LA EXONERACIÓN DE REVISIÓN ÉTICA** del siguiente proyecto de investigación:

Título del proyecto: "ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA IN VITRO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE HOJAS DE Brassica oleracea (COL MORADA) SOBRE Escherichia coli Y Salmonella enterica" Versión Nro. 1, aprobada por el asesor en fecha 05/05/ 2026.

La exoneración se otorga al verificarse que el proyecto, tal como fue presentado, no involucra la intervención directa con seres humanos, animales de experimentación, ni el uso de información sensible que requiera consentimiento informado u otras medidas éticas adicionales.

El autor o autores deberán considerar lo siguiente:

- La exoneración no constituye una aprobación ética completa, sino la determinación de que el proyecto no requiere revisión ética integral por parte del CIEIC.
- El proyecto deberá ejecutarse exclusivamente conforme a la versión presentada y evaluada. Cualquier modificación dejará sin efecto la exoneración otorgada.
- En caso de realizar ajustes o cambios al proyecto, el autor responsable deberá solicitar una nueva evaluación ética ante el CIEIC, la cual podrá corresponder a una aprobación de enmienda o a una revisión ética completa, según corresponda.
- La vigencia de la exoneración es de veinticuatro (24) meses contados desde la fecha de emisión de la presente constancia y no sustituye ni aplica a trámites administrativos ante otras áreas institucionales, como la Jefatura de Grados y Títulos.

Es cuanto informo a usted para su conocimiento y fines pertinentes.

Atentamente,

Mg. Angelica Karina Minaya Galarreta
Presidente
Comité Institucional de Ética e Integridad Científica
Universidad Privada Norbert Wiener

Anexo 10 Carta de Aprobación del laboratorio para la recolección de datos



"Año de la Esperanza y el Fortalecimiento de la Democracia"

CONSTANCIA

El que suscribe Lic. T.M. Siri Rodríguez, Walter Aurelio encargado de supervisar el presente trabajo de investigación en el Laboratorio Biológico y Análisis Clínico Santa Rosa E.I.R.L., acepta que: Las bachilleres de la facultad de Ciencias de la salud, Programa académico de Medicina humana de la Universidad Norbert Wiener, Bach. PACHECO HUARHUACHI DAYAN ISABEL y Bach. RODRÍGUEZ PALPAN RUTH ESTRELLITA, realicen los ensayos microbiológicos de su proyecto de tesis titulado: **"ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA IN VITRO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE HOJAS DE *Brassica oleracea* (COL MORADA) SOBRE *Escherichia coli* Y *Salmonella enterica*"**, dentro de las instalaciones del laboratorio.

Se expide la presente constancia a solicitud de los interesados, para los fines correspondientes.

Lima, 09 de julio del 2026

.....
Lic. T.M. Walter A. Siri Rodríguez

CTMP. 10808



Anexo 11 Informe del asesor del turnitin



Página 2 de 80 - Descripción general de integridad

Identificador de la entrega: 14912-606790047

10% Similitud general

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para ca...

Filtrado desde el informe

- ▶ Bibliografía
- ▶ Texto citado
- ▶ Texto mencionado
- ▶ Coincidencias menores (menos de 10 palabras)

Fuentes principales

- 8%  Fuentes de Internet
- 2%  Publicaciones
- 6%  Trabajos entregados (trabajos del estudiante)

Marcas de integridad

N.º de alertas de integridad para revisión

No se han detectado manipulaciones de texto sospechosas.

Los algoritmos de nuestro sistema analizan un documento en profundidad para buscar inconsistencias que permitirían distinguirlo de una entrega normal. Si advertimos algo extraño, lo marcamos como una alerta para que pueda revisarlo.

Una marca de alerta no es necesariamente un indicador de problemas. Sin embargo, recomendamos que preste atención y la revise.

Fuentes principales

8%	 Fuentes de Internet
2%	 Publicaciones
6%	 Trabajos entregados (trabajos del estudiante)

Fuentes principales

Las fuentes con el mayor número de coincidencias dentro de la entrega. Las fuentes superpuestas no se mostrarán.

1	Internet	repositorio.uma.edu.pe	2%
2	Internet	repositorio.uap.edu.pe	<1%
3	Internet	repositorio.unica.edu.pe	<1%
4	Internet	repositorio.ucv.edu.pe	<1%
5	Internet	repositorio.uwienr.edu.pe	<1%
6	Trabajos entregados	Universidad María Auxiliadora SAC on 2026-03-12	<1%
7	Internet	repositorio.unsaac.edu.pe	<1%
8	Trabajos entregados	Universidad Wiener on 2024-07-06	<1%
9	Internet	alicia.concytec.gob.pe	<1%
10	Internet	www.researchgate.net	<1%
11	Trabajos entregados	Universidad Continental on 2025-09-08	<1%

12	Internet	issuu.com	<1%
13	Internet	revistas.utb.edu.ec	<1%
14	Internet	hdl.handle.net	<1%
15	Trabajos entregados	Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga on 2025-06-30	<1%
16	Internet	repositorio.uroosevelt.edu.pe	<1%
17	Trabajos entregados	Universidad Cesar Vallejo on 2016-07-20	<1%
18	Internet	repositorio.uancv.edu.pe	<1%
19	Trabajos entregados	Universidad Católica San Pablo on 2025-11-03	<1%
20	Trabajos entregados	Universidad Cesar Vallejo on 2025-05-20	<1%
21	Internet	purl.org	<1%
22	Internet	definicionwiki.com	<1%
23	Internet	repository.ubaya.ac.id	<1%
24	Trabajos entregados	Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo on 2025-11-30	<1%
25	Trabajos entregados	Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo on 2026-04-23	<1%

26	Trabajos entregados	Universidad Católica de Santa María on 2025-06-26	<1%
27	Trabajos entregados	Universidad César Vallejo on 2016-12-22	<1%
28	Internet	dspace.esPOCH.edu.ec	<1%
29	Internet	pt.scribd.com	<1%
30	Internet	repositorio.ucsm.edu.pe	<1%
31	Internet	revistas.unsm.edu.pe	<1%
32	Internet	www.tdx.cat	<1%
33	Internet	www.thefreelibrary.com	<1%
34	Publicación	"Proceedings of the XII International Congress on Bioscience and Biotechnology, ...	<1%
35	Publicación	C.M.A. Dos Santos, R.G. Pereira. "Sunflower oil obtained by a new device and extr...	<1%
36	Trabajos entregados	Universidad Andina del Cusco on 2026-02-03	<1%
37	Internet	es.slideshare.net	<1%
38	Internet	repositorio.unsch.edu.pe	<1%
39	Internet	repository.unad.edu.co	<1%

10% Similitud general

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para ca...

Filtrado desde el informe

- Bibliografía
- Texto citado
- Texto mencionado
- Coincidencias menores (menos de 10 palabras)

Fuentes principales

- 8%  Fuentes de Internet
- 2%  Publicaciones
- 6%  Trabajos entregados (trabajos del estudiante)

Marcas de integridad

N.º de alertas de integridad para revisión

No se han detectado manipulaciones de texto sospechosas.

Los algoritmos de nuestro sistema analizan un documento en profundidad para buscar inconsistencias que permitirían distinguirlo de una entrega normal. Si advertimos algo extraño, lo marcamos como una alerta para que pueda revisarlo.

Una marca de alerta no es necesariamente un indicador de problemas. Sin embargo, recomendamos que preste atención y la revise.

Fuentes principales

- 8%  Fuentes de Internet
- 2%  Publicaciones
- 6%  Trabajos entregados (trabajos del estudiante)

Fuentes principales

Las fuentes con el mayor número de coincidencias dentro de la entrega. Las fuentes superpuestas no se mostrarán.

1	Internet	repositorio.uma.edu.pe	2%
2	Internet	repositorio.uap.edu.pe	<1%
3	Internet	repositorio.unica.edu.pe	<1%
4	Internet	repositorio.ucv.edu.pe	<1%
5	Internet	repositorio.uwiener.edu.pe	<1%
6	Trabajos entregados	Universidad María Auxiliadora SAC on 2026-03-12	<1%
7	Internet	repositorio.unsaac.edu.pe	<1%
8	Trabajos entregados	Universidad Wiener on 2024-07-06	<1%
9	Internet	alicia.concytec.gob.pe	<1%
10	Internet	www.researchgate.net	<1%
11	Trabajos entregados	Universidad Continental on 2025-09-08	<1%